

1949, Heft 2

COMMONWEALTH INST.
ENTOMOLOGY LIBRARY

12 SEP 1949

SERIAL EW.375B
SEPARATE

EXD



prospekt

FÜR WISSENSCHAFT UND PRAXIS

VERÖFFENTLICHUNGEN DER

»Bayer« PFLANZENSCHUTZ-ABTEILUNG LEVERKUSEN

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	Seite
1. Dr. G. Unterstenhöfer:	
Über die Erfolgskontrolle bei der Rapsglanzkäfer- bekämpfung im Jahre 1949	3
2. H. F. Linskens:	
Beitrag zur Analyse der Hemmwirkung des Wirkstoffes 831 (Belvitan K)	5
3. H. F. Linskens:	
Der Eingriff des Wirkstoffes 831 (Belvitan K)	8
4. Dr. P. E. Frohberger:	
Untersuchungen über das Verhalten des Insektizids Diäthyl-p-nitrophenyl-thiophosphat (E 605) auf und in der Pflanze	10
5. Weitere Veröffentlichungen über E 605	92

Nachdruck gestattet



FARBENFABRIKEN BAYER

Verkauf Pflanzenschutz

LEVERKUSEN

Über die Erfolgskontrolle bei der Rapsglanzkäferbekämpfung im Jahre 1949

Von Dr. G. Unterstenhöfer

Sun und *Shepard* befassen sich in der Arbeit „Methods for calculating and correcting the mortality of insects“*) mit der Frage der Berichtigung von Resultaten mit Bekämpfungsmitteln bei Insekten, bei denen in der Zeit zwischen Anwendung der Mittel und Versuchsauswertung eine Zunahme der Population stattfindet. Als Ergebnis der Untersuchungen entwickeln sie eine allgemein gültige Formel, mit deren Hilfe der berichtigte Prozentsatz der Populationsabnahme in behandelten Parzellen festgestellt werden kann. Diese Formel ist für die Versuchsauswertung bei Insekten mit hoher Vermehrungsrate oder sich über längere Zeit hinziehender Zuwanderung oder laufendem Schlüpfen aus Eiern, also überall da, wo der Faktor „Populationszunahme“ die Endresultate beeinflussen kann, von großer Wichtigkeit. Gerade im Jahre 1949 erwies sich die Berücksichtigung dieser Formel bei der Erfolgskontrolle von Freilandversuchen gegen den Rapsglanzkäfer als sehr notwendig, wenn der Wert einer Bekämpfung exakt und nicht durch oberflächliche Besichtigung der Felder oder Auszählen der Käfer je Knospenstand vor und nach der Behandlung und Vergleich derselben festgestellt werden sollte. Die Gründe dafür, daß der letztgenannte und allgemein übliche Weg der Versuchsauswertung zu Fehlschlüssen führen mußte, liegen in den Witterungsverhältnissen des Jahres 1949 und dem damit verbundenen besonderen Verhalten der Käfer einerseits und der Pflanzen andererseits, die dann auch den Ausgangspunkt unserer Betrachtungen bilden müssen.

Die beigegefügte Darstellung gibt einen Einblick in die Tages-Höchst- und Durchschnittstemperaturen vom 15. März bis zum 20. April, den Schoß- und Blühbeginn des Rapses und Beginn des Befalls und Massenbefalls der Rapsfelder durch den Glanzkäfer in der Umgebung von Höfchen im Jahre 1949. Danach wurde der Raps, der den Winter gut überstanden hatte, von Anfang April kurz nach Beginn des Schossens an von den ersten Käfern befallen. Die Massenzuwanderung der Käfer setzte in der Osterwoche mit dem Einbruch einer sommerlich-warmen Wetterperiode ein, welche die Hauptmenge der Käfer aus den Winterquartieren gelockt hatte. Parallel mit der Massenzuwanderung ging eine unge-

*) Jour. Econ. Ent. 1947, S. 710—715.

wöhnlich schnelle Entwicklung der Rapspflanzen, die in wenigen Tagen, Anfang des letzten Monatsdrittels, den Blühbeginn auslöste. In unserer Höhenlage setzte der Blühbeginn also etwa 10 bis 14 Tage früher ein als in Normaljahren. Charakteristisch für das Jahr 1949 war somit eine sehr kurze kritische Periode mit schlagartigem Massenbefall der Felder kurz vor Blühbeginn.

Die meisten Bekämpfungsmaßnahmen wurden von seiten der Praxis in der Woche vor Ostern durchgeführt, als durch den einsetzenden Massenzug der Befall der Felder deutlicher wurde, also noch einige Tage vor Beendigung der Massenzuwanderung; die Hauptmasse der Käfer flog erst nach diesen Stäubungen zu. Eine Reihe von Bekämpfungen wurden aber erst nach den Feiertagen durchgeführt, also nach Beendigung des Massenzuges.

Auffallend ist nun, daß die Stäubungen vor Ostern, die meist erst nach Ostern bonitiert wurden, als Versager, und Stäubungen nach Ostern mit den gleichen Mitteln und Aufwandmengen als durchschlagend wirksam bezeichnet wurden. Wie erklären sich diese widersprechenden Resultate? Sie erklären sich aus der Tatsache, daß nach Ostern der Zuflug des Rapsglanzkäfers auf die Felder beendet war, die Stäubemittel also gegen eine Befallsdichte wirken konnten, die durch Zuwanderung nicht mehr verändert wurde. Die von Käfern „gesäuberten“ Felder blieben also praktisch sauber. Anders bei den Stäubungen vor Ostern. Auch hier wurden die vorhandenen Käfer abgetötet. Diese Wirkung wurde aber durch laufenden Zuflug überdeckt, so daß ständig Käfer zu finden waren, die dort, wo noch Mittel vorhanden war, abgetötet wurden, dort aber, wo inzwischen, beschleunigt durch die Witterung, neue Knospenstände gebildet wurden, welche frei von Staub waren, überlebten. Diese Faktoren, nämlich Zuwanderung und Zuwachs, wurden bei der oberflächlichen Mitteilung, die Bekämpfungsmaßnahmen hätten ungenügend gewirkt, nicht berücksichtigt. Zahlenmäßig lagen in einem Versuch die Verhältnisse beispielsweise wie folgt:

Unbehandelte Kontrolle		Versuchsparzelle	
Käferzahl je 10 Knospenstände		Käferzahl je 10 Knospenstände	
Bei Versuchsbeginn	20,7	Vor dem Stäuben	20,7
Nach 5 Tagen . . .	92,3	Nach 5 Tagen . . .	11

Die Populationszunahme durch Zuwanderung ergibt sich aus der Differenz

$$92,3 - 20,7 = 71,6, \text{ das sind rund } 340\%.$$

Die Abtötung läßt sich nun aus der Differenz $92,3 - 11 = 81,3$ Käfer je 10 Knospenstände in den Versuchspartellen errechnen; denn in der behandelten Parzelle wäre der Befall, wenn keine Behandlung durchgeführt worden wäre, wie in der Kontrolle gestiegen. Gewöhnlich wird aber die Wirkung der Stäubung errechnet nach Maßgabe der Differenz zwischen der Zahl der lebenden Käfer vor und nach der Stäubung, weil eine genaue Auszählung der toten Käfer im Feldversuch unmöglich ist und weil bei der praktischen Anwendung keine unbehandelte Kontrolle eingeschaltet wird. Im vorliegenden Falle wurde dann die Wirkung der Stäubung mit einer 47%igen Abtötung angegeben. Auf dieser Rechnung basieren denn auch die mitgeteilten ungenügenden Resultate, die, da die Zuwan-

derung infolge Fehlens einer Kontrollparzelle unberücksichtigt blieb, zum mindesten nicht korrekt ist. Die von *Sun* und *Shepard* empfohlene Formel berücksichtigt nun diesen wichtigen Faktor „Befallszunahme“; sie lautet

$$\frac{Pz \pm Pck}{100 \pm Pck} \times 100 =$$

korrigierter Prozentsatz der Populationsabnahme bei Zu- oder Abnahme der Population in der Kontrolle. Hierbei bedeutet *Pz* den oben errechneten Wert von 47 % und *Pck* den Prozentsatz der Populationsänderung; das Vorzeichen ist positiv, wenn die Population in der Kontrolle zunimmt, und negativ, wenn sie abnimmt. Wendet man diese Formel für die Auswertung des vorliegenden Versuches an, so ergibt sich:

$$\frac{47 + 340}{100 + 340} \times 100 = 88 \%$$

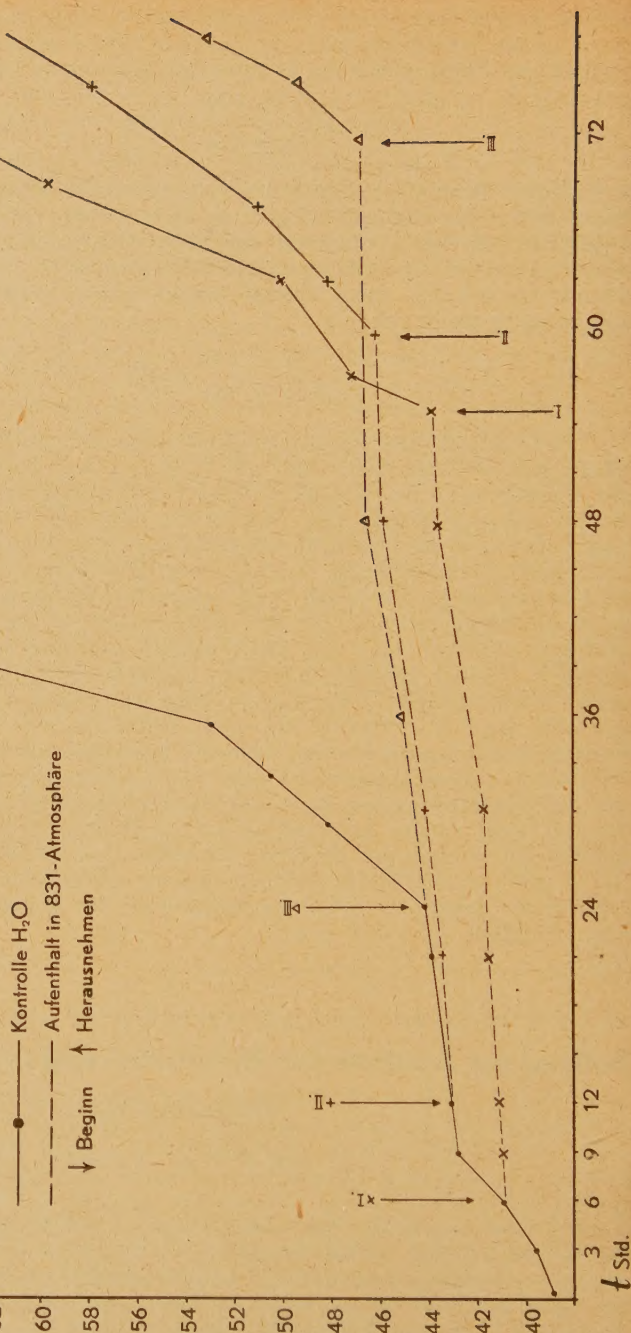
Die wirkliche Leistung der Bekämpfungsmaßnahmen ist also mit einer Abtötung von 88 % der Käfer statt mit 47 % zu veranschlagen. Das läßt den Wert der Maßnahme in einem ganz anderen Lichte erscheinen. Den Praktiker interessiert aber letztendings nicht das Abtötungsprozent, sondern, ob das Ergebnis eine Verzinsung des durch die Bekämpfung investierten Kapitals darstellt oder nicht. Man darf diese Frage bejahen, denn es ist bei der Rapsglanzkäferbekämpfung entscheidend, die ersten Knospenstände zum Ansatz zu bringen, weil die aus ihnen hervorgehenden Schoten zahlenmäßig für eine gute Ernte ausreichen und weil dieselben früh und gleichmäßig reifen und die Ernte früh und mit geringem Verlust vornehmen lassen. Dadurch wird betriebswirtschaftlich ein großer Vorteil erzielt. Und in diesem Jahre war nach den Stäubungen vor Ostern die Blüte bald zu erwarten, bei deren Einsetzen jede Bekämpfung nicht nur nicht mehr notwendig, sondern sogar mit Rücksicht auf die Bienen zu verwerfen ist. Daß diese Gedankengänge keine theoretischen Ableitungen sind, ergibt sich aus der Beobachtung der durch die Bekämpfung erzielten Schadensverhütung, die sich leicht an den sogenannten kurzen Stielchen ermitteln läßt. Die frühen Stäubungen ergaben, daß die ersten Knospenanlagen tatsächlich erhalten blieben. Damit war also der Zweck der Bekämpfungsmaßnahmen erreicht. Die späteren Stäubungen dagegen konnten die Schäden an den ersten Knospenständen nicht mehr verhüten.

Beitrag zur Analyse der Hemmwirkung des Wirkstoffes 831 (Belvitan K)

Von H. F. Linskens

Die Frage nach der Wirkungsweise des im Keimhemmungsmittel „Belvitan K“ enthaltenen Wirkstoffes 831 wird von *Grewe* (1) mit einem Eingriff in den Atmungsablauf beantwortet. Die Bedeutung der keimhemmenden Wirkung der Gasphase der Substanz konnte an einem anderen Objekt (*Peragis* I — Sommerweizen Hochzucht, Ernte 1948) gezeigt werden.

Verhalten verschiedener Keimstadien (*Tortricum sativum* Peragis I, Sommer)
in gesättigter Atmosphäre des
Wirkstoffes 831 (48 Std. lang)



Methode:

Zu diesem Zwecke wurden Weizenkaryopsen unter Laboratoriumsbedingungen (Petri-Schalen, Fließpapier, 5 ccm dest. Wasser, Keimungstemperatur $18 \pm 0,5^\circ \text{C}$) zur Keimung gebracht.

Der Verlauf der Keimung wurde als Streckung auf Grund einer Anregung von Kisser (2) am Embryo direkt gemessen. Dazu wurden die Embryonen in verschiedenen Entwicklungsstadien unter dem Binokular freipräpariert und mit Hilfe einer 100teiligen (= 5 mm) Okularstrichplatte die Gesamtlänge von der Koleoptilenspitze bis zur Wurzelspitze (ohne Wurzelhaube) gemessen. Zur Erreichung genauer Meßwerte wird dabei das Samenkorn auf einen 30 Grad schräg gestellten Objektträger aufgebracht. Der geneigt auf dem Endosperm aufliegende Keimling wird so mit seiner ganzen Ausdehnung in die optische Ebene gebracht.

Die in der Abbildung gezeichneten Punkte stellen Mittelwerte aus 2×10 Einzelmessungen dar. Der mittlere Fehler schwankt zwischen 1 und 6 Strich.

Ergebnisse:

Die Keimungskurve der Kontrolle zeigt den erwarteten Verlauf. Werden nun Samen in verschiedenen Keimstadien (nach 6-, 12-, 24stündiger Keimung) mitsamt ihrem Keimbett in eine gesättigte Atmosphäre des Wirkstoffes 831 gebracht, so tritt eine momentane Hemmung der Embryostreckung ein. Diese dauert während der ganzen Zeit des Verbleibens in der gesättigten Atmosphäre an. Nach 48 Stunden wurden die Samen mit ihren Keimbetten der hemmenden Atmosphäre entnommen und die Keimschalen eine Stunde lang offen im Freien stehengelassen. Der weitere Verlauf der Keimungskurve zeigt an, daß nun das während eines Zeitraumes von 48 Stunden gehemmte Wachstum ohne erkennbaren Schaden sofort weitergeht.

Es ergibt sich daraus, daß der Wirkstoff 831 in seiner Dampfphase eine augenblickliche Keimhemmung ausübt. Diese ist zeitlich begrenzt und in den beobachteten Keimstadien absolut reversibel. Nach vollständiger Entfernung der Dampfphase des Wirkstoffes wird die Keimung der Weizenembryonen ungestört fortgesetzt. Auf die Bedeutung dieses Wirkungsmodus des Belvitan K für die Behandlung von Pflanzkartoffeln wurde in dem Beitrag von Grewe (1) schon ausdrücklich hingewiesen.

Die von Grewe (1) an Kartoffeln, Fusarium und Phytophthora gewonnenen Ergebnisse konnten in vollem Umfang auch bei der Keimung des Weizens reproduziert werden.

Literatur:

1. Grewe: Über die Wirkungsweise von Belvitan K unter besonderer Berücksichtigung seiner fungistatischen Wirkung. „Höfchen“-Briefe Nr. 1, 1949.
2. Kisser: Zur Analyse der chemischen Reizerfolge auf die Samenkeimung. Beitr. z. Biol. d. Pflanzen 20, 59 (1933).

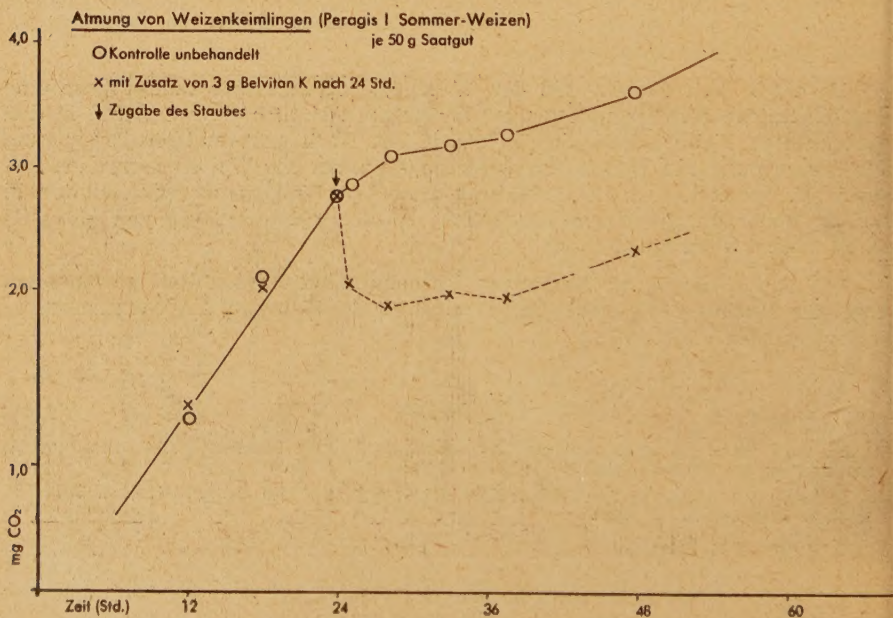
Der Eingriff des Wirkstoffes 831 (Belvitan K)

Von H. F. Linskens

Von Grewe (1) konnte an verschiedenen pathogenen Pilzen und von mir in einer weiteren Studie an Weizenkeimlingen (2) gezeigt werden, daß der Wirkstoff 831 des Präparates Belvitan K unter den gegebenen Bedingungen nur einen reversibel hemmenden Eingriff in das Keimungsgeschehen ausübt.

Die Frage nach dem Angriffspunkt des Stoffes wurde bereits von Grewe mit einem Hinweis auf die Atmung auf Grund der Beobachtung an Kartoffelknollen, die „von innen her keimen“, beantwortet. Eine Atmungsbestimmung erschien an diesem Punkt der Problemstellung erforderlich. Sie wurde an keimendem Weizen (Peragis I — Sommerweizen Hochzucht, Ernte 1948) mittels der Pettenkofer'schen Methode (Einleiten kohlensäurefreier Luft, Absorption der von den Keimlingen ausgeschiedenen Kohlensäure durch Barythlauge, Titration mit $\frac{1}{10}$ normaler Salzsäure, Indikator: 1%ige Phenolphthaleinlösung) durchgeführt. Es dienten dazu jeweils Samenportionen von 50 g (entsprechend 1250 ± 5 Samen), die zwischen feuchtem Fließpapier in bedeckten Keimschalen bei $20 \pm 0,5^\circ \text{C}$ im Dunkelthermostaten herangezogen wurden.

Nach 24stündiger Keimung wurden 3 Gramm Belvitan K (Handelsware) als Staub gleichmäßig auf das Keimbett aufgetragen. Die parallel laufende Kontrolle wird mit der gleichen Menge reinen Kaolinstaubes behandelt. Die Werte der Atmungsbestimmung sind graphisch dargestellt. Ein Meßpunkt entspricht dabei der in 30 Minuten ausgeschiedenen Kohlensäuremenge.



Als Ergebnis ist daraus abzulesen:

1. Die Atmung der Weizenkeimlinge steigt während der ersten 24 Stunden der Entwicklung stetig an.
2. Die Zugabe von Trägerstoff (Kaolin) ohne Wirkstoff übt nur einen geringen depressiven Einfluß auf die Atmung aus.
3. Die Zugabe von 3 g Belvitan K-Staub übt schon nach einer Stunde einen deutlich hemmenden Einfluß auf die Atmung der Keimlinge aus. Dieser hält zumindest 12 Stunden lang an. Durch die zur Atmungsbestimmung notwendigen Manipulationen geht mit der Zeit der flüchtige Wirkstoff infolge seines hohen Dampfdruckes zum Teil verloren; ein Wiederanstieg der Atmung der keimenden Weizenkaryopsen ist die Folge. Auch hier zeigt sich wieder die entscheidende Bedeutung der Dampfphase des Präparates, auf die bereits hingewiesen wurde (2).

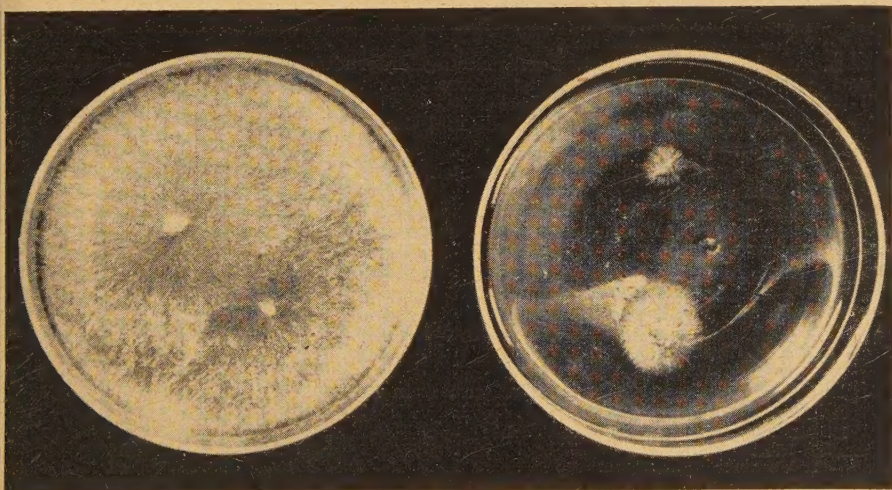
Zusammenfassung:

An keimendem Weizen kann die atmungshemmende Wirkung des Wirkstoffes 831 (Belvitan K) gezeigt werden.

Abgeschlossen am 1. 5. 1949.

Literatur:

1. Grewe: Über die Wirkungsweise von Belvitan K unter besonderer Berücksichtigung seiner fungistatischen Wirksamkeit. „Höfchen“-Briefe 1949, Heft 1, 37.
2. Linskens: Beitrag zur Analyse der Hemmwirkung des Wirkstoffes 831 (Belvitan K). „Höfchen“-Briefe 1949, Heft 2.



Rhizoctonia solani (Wurzeltöter). 5. Tag nach Impfung der Kultur.

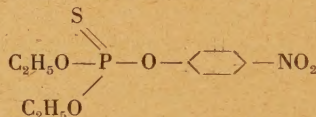
Links: Kontrolle. Rechts: Belvitan K 0,5 g im Deckel der Schale am 4. Tag nach dem Einbringen.

Untersuchungen über das Verhalten des Insektizids Diäthyl-p-nitrophenyl-thiophosphat (E 605) auf und in der Pflanze

Von Dr. P. E. Frohberger

Die Substanz, mit der die vorliegenden Untersuchungen an verschiedenen Organen von Angiospermen durchgeführt wurden, ist das insektizide Pflanzenschutzpräparat E 605. Es wurde im Jahre 1944 in den Bayer-Forschungsstätten Elberfeld synthetisiert und in den folgenden Jahren auf Grund zahlreicher Versuche in Labor und Freiland als hochwertiges Insektizid mit praktisch universeller Wirkungsbreite erkannt.

Seiner chemischen Zusammensetzung nach ist das E 605 ein Diäthyl-p-nitrophenyl-thiophosphat mit folgender Struktur: *)



Es ist bei Zimmertemperatur eine braune, ölige Flüssigkeit von typischem Geruch und mit einem Sättigungsdruck von 0,002 mm Hg.**) Sein Molekulargewicht ist

*) Chemische und physikalische Angaben nach G. Schrader

**) Die Bestimmung des Sättigungsdruckes und der Löslichkeit danke ich Herrn Dr. Noack, Höfchen

INHALTSANGABE

I. Einfluß von E 605 auf den Habitus und das Gewebe	13
A. Zur Frage der Schadwirkung	13
1. Nach Sproßbehandlung	13
2. Nach Wurzelbehandlung	16
B. Zur Frage der wuchs- und entwicklungsfördernden Wirkung	17
1. Zur Frage des Stimulationseffektes	17
2. Zur Frage des Düngeeffektes	18
C. Zur Frage der Wirkung auf Zelle und Gewebe	25
D. Auswertung der Ergebnisse	27
II. Der E 605-Nachweis mit Hilfe des Fliegentestes	29
A. Methode	29
B. Genauigkeit und Grenze des quantitativen Nachweises	30
C. Quantitative Bestimmung des Präparatgehaltes von Testproben aus der Abtötungszeit	33
III. Die Guttationstropfenmethode	37
1. Versuche und Ergebnisse	37
2. Auswertung der Ergebnisse	38
IV. Zur Frage der E 605-Aufnahme durch die Wurzel	40
1. Versuche und Ergebnisse	40
2. Auswertung der Ergebnisse	40
V. Zur Frage des Eindringens des Präparates in Sproßorgane	42
A. Eindringen in das Blatt	42
B. Eindringen in Knollen und Früchte	43
1. Methodisches	43
2. Versuche und Ergebnisse	44
a) Versuche an reifen Lageräpfeln	44
b) Versuche an unreifen Äpfeln	50
c) Versuche an Weinbeeren	51
d) Versuche an Citrus-Früchten	53
e) Versuche an Tomaten	54

291, seine Dichte 1,2734 und sein Siedepunkt 174° C bei 2 mm Hg Druck. Es ist in Lipoiden und vielen organischen Lösungsmitteln leicht löslich, während es sich in Wasser bei Zimmertemperatur nur ungefähr im Verhältnis 1:20 000 löst.***) In dem Produkt E 605 f sind dem reinen Wirkstoff 30 % Emulgatorsubstanz zugesetzt, wodurch es mit Wasser eine verhältnismäßig stabile Emulsion bildet, die wiederum mit Wasser in jedem Verhältnis mischbar ist. In der vorliegenden Arbeit wurden die Versuche hauptsächlich mit wässrigen Brühen von E 605 f angestellt, weil es in der Praxis auch nur in emulgiertem Zustande verwandt wird und sich der Emulgator in seiner Wirkung auf Insekt und Pflanze als weitgehend indifferent erwiesen hat. In einigen Fällen erschien es jedoch notwendig, den Wirkstoff und den Emulgator getrennt zu prüfen.

Das Präparat gilt als neurotropes Kontaktinsektizid, dem aber auch nach anderen Untersuchungen eine Fraß- und Atemgiftwirkung zukommt. Auch auf Warmblüter und Menschen kann es bei Einverleibung entsprechend größerer Mengen in nicht zu geringer Konzentration als Gift wirken.

Als im Sommer 1947 mit dieser Arbeit begonnen wurde, war die praktische Anwendbarkeit des Präparates schon weitgehend erwiesen, aber über seine Wirkung und sein Verhalten auf und in der Pflanze war nur sehr wenig bekannt. Im Schrifttum lag kaum etwas darüber vor. Es stand fest, daß sein chemotherapeutischer Index ungewöhnlich günstig ist (*Unterstenhöfer* L. V. 27)*). Darüber hinaus machten Praktiker vielfach darauf aufmerksam, daß sich behandelte Pflanzen häufig durch eine kräftigere Färbung von den unbehandelten unterscheiden und schlossen daraus auf eine stimulierende Wirkung des Präparates.

*) Die L.V.-Zahlen beziehen sich auf das Literaturverzeichnis

f) Versuche an Kartoffelknollen	54
g) Bestimmung der Wirkstoffmenge auf normal gespritzten Früchten	55
3. Auswertung der Ergebnisse	56
VI. Zur Frage der Leitung des Präparates in der Pflanze	57
A. Leitung auf kurze Strecken	57
1. Versuche und Ergebnisse	57
2. Auswertung der Ergebnisse	58
B. Leitung auf weite Strecken	59
1. In den Holzgefäßen	59
2. In den Siebröhren	59
a) Versuche und Ergebnisse	60
b) Auswertung der Ergebnisse	62
VII. Zur Frage der Speicherung des Präparates in der Pflanze	63
VIII. Zur Frage der Rekretion von E 605 aus der Pflanze	63
IX. Zur Frage der Inaktivierung des Präparates	65
A. Die E 605-Inaktivierung in der Pflanze	65
1. Im grünen Sproß	65
2. Im etiolierten Sproß	68
B. Die E 605-Inaktivierung in Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration des Lösungsmittels	69
X. Die Bedeutung der Pflanzenfermente für die E 605-Inaktivierung	72
A. Die Beständigkeit von E 605 auf lebenden und durch Fermentgifte abgetöteten Blättern	72
B. Der Einfluß von Pflanzenpresssäften auf das Präparat	74
1. Presssäfte von natürlicher Azidität	74
2. Presssäfte mit Zusatz von Pufferlösung	75
3. Presssäfte mit Zusatz von Pufferlösung und eines Desinfiziens	77
XI. Zur Frage der Präparat-Inaktivierung durch Mikroorganismen	78
XII. Besprechung der Ergebnisse	82
XIII. Zusammenfassung	86
XIV. Summary	87
XV. Résumé	89
XVI. Literaturverzeichnis	91

Andere dachten auf Grund dieser Erscheinung an einen Düngeeffekt, der dem Stickstoff- und Phosphorgehalt des Präparates zugeschrieben wurde. (Vergl. *Hofferbert* und *Orth* L. V. 9.) Doch lagen keinerlei exakte Untersuchungen darüber vor. Ferner hatte *Unterstenhöfer* (L. V. 27) festgestellt, daß Blattläuse, die im Innern vollkommen eingerollter Blätter sitzen, absterben, wenn die Außenseiten dieser Blätter mit 0,01%iger E 605 f-Brühe behandelt werden. Die ebenfalls in den eingerollten Blättern befindlichen Coccinelliden- und Syrphiden-Larven bleiben ungeschädigt. Daraus schloß *Unterstenhöfer* auf eine „Tiefenwirkung“ des Präparates, daß also das Präparat in das Innere des Blattes eindringt, wo es mit den Saugorganen der Blattläuse in Berührung kommt, ohne jedoch das Blatt ganz zu durchdringen. Dieser Schluß erschien jedoch noch nicht als restlos gesichert, da auch an eine eventuelle Gaswirkung des Präparates gedacht werden mußte*). Es war auch bekannt, daß einige Tage nach der Behandlung Pflanzenteile für Insekten ungiftig werden, während Holz und Textilien wochen- und monatelang für Insekten toxisch bleiben. Es lag daher nahe, an ein „Versacken“ des Präparates ins Pflanzeninnere und an eine eventuelle Verseifung durch kutikulär ausgeschiedene Alkalisalze zu denken.

Schon diese genannten Erscheinungen bedurften noch einer kausalanalytischen Untersuchung und darüber hinaus erschien es aus phytotherapeutischen und pharmakologischen Gründen wichtig, einerseits einen allgemeinen Überblick über die Nebenwirkungen des Präparates auf die Pflanze zu gewinnen und andererseits zu erfahren, welches Schicksal das Präparat auf und in der Pflanze erleidet. Nicht zuletzt mußte das Verhalten der Pflanze gegenüber einer für sie fremden organischen Verbindung von allgemein botanischem Interesse sein. Das Präparat schien für derartige Untersuchungen besonders geeignet, da nach Molekülgröße und Löslichkeit in Lipoiden und wässrigen Medien zu erwarten war, daß es pflanzliches Gewebe passieren konnte. Ferner hatte es sich für Pflanzen als weitgehend unschädlich erwiesen und hatte den großen Vorteil, in ihren Säften und Geweben noch in der starken Verdünnung von 1:1 000 000 im biologischen Test mit Sicherheit nachweisbar zu sein.

Bei vorliegender Arbeit wurde die Hauptaufgabe darin gesehen, nach Entwicklung geeigneter Versuchsmethoden folgende Fragen als Kernprobleme zu untersuchen:

1. Welchen Einfluß übt das Präparat auf den Habitus und das Gewebe der Pflanze aus?
2. Kann es von der Wurzel aufgenommen werden?
3. Vermag es die Epidermisüberzüge verschiedener Sproßorgane zu durchdringen?
4. Vermag es pflanzliches Gewebe zu durchdringen?
5. Gelangt es in die Saftleitungsbahnen der Pflanze?
6. Kann es in irgendwelchen Pflanzenteilen gespeichert werden?
7. Kann es gegebenenfalls wieder ausgeschieden werden?
8. Ist das Molekül in der Pflanze stabil?
9. Vermag die Pflanze dem Molekül Nährstoffe zu entnehmen?

Natürlich liegt noch eine erheblich größere Zahl von Fragen vor und weitere werden durch die Ergebnisse angeregt, die einer Untersuchung durchaus zugäng-

*) *Lüdcke* konnte eine gute Wirkung des Präparates auf Blattminierer feststellen. Nachr.-Bl. d. BZA, Braunschweig 2/1949: „Über das Eindringungsvermögen von E 605 f in lebende pflanzliche Gewebe.“

ich sind. Doch müssen sie einem späteren Zeitpunkt vorbehalten bleiben, da das Ziel dieser Arbeit darin gesehen wurde, in der zur Verfügung stehenden Zeit dem gesamten Problemkomplex ein Skelett zu geben.

Es sei ferner ausdrücklich darauf hingewiesen, daß die geschilderten Untersuchungen nur mit dem Präparat E 605 durchgeführt wurden und die Ergebnisse nicht ohne weiteres auf andere Präparate mit mehr oder weniger großer Ähnlichkeit der chemischen Zusammensetzung übertragen werden können. Denn es ist erstaunlich, wie selbst geringfügige Veränderungen am Molekül dem Präparat einen ganz anderen Charakter zu geben vermögen.

I.

Einfluß von E 605 auf den Habitus und das Gewebe

Nach den Erfahrungen mit zahlreichen Pflanzenschutzmitteln, die für die Pflanze nicht immer harmlos sind, liegt es nahe, auch bei E 605 zunächst an die Möglichkeit einer Phytotoxizität zu denken. Doch in keinem der Berichte zahlreicher Versuchsansteller ist von einer ungünstigen Beeinflussung der Pflanze durch E 605 die Rede. Vielmehr wird häufig darauf hingewiesen, daß sich die behandelten Pflanzen vielfach deutlich durch eine kräftigere Laubfärbung von den unbehandelten unterscheiden. Es konnte hier auch beobachtet werden, daß sich in Glasgefäßen, in denen 0,01%ige E 605 f-Brühe aufbewahrt wurde, mit der Zeit einzellige Algen ansiedelten.

A. Zur Frage der Schadwirkung

1. Nach Sproßbehandlung

1. Versuchsreihe:

Methode: Junge Pflanzen aus verschiedenen Familien und Ordnungen wurden im August 1947 einzeln in humusreiche Komposterde eingetopft und im Gewächshaus bei 15—30° C kultiviert. Es waren folgende Arten: *Phaseolus vulgaris* L. (doppelte holländische Prinzeßbohne), *Apium graveolens* L. (Sellerie), *Chenopodium album* L. (Wilde Melde), *Stellaria media* Villars (Vogelmiere), *Solanum lycopersicum* L. (Tomate) und *Avena sativa* L. (Hafer). Je 7 Pflanzen jeder Art wurden einige Tage später nach Entwicklung der ersten Laubblätter 4 Wochen lang wöchentlich einmal mittels einer Zerstäuberspritze mit einer E 605 f-Brühe von bestimmtem Wirkstoffgehalt gespritzt. Eine Benetzung des Bodens wurde dabei durch Abdecken mit Pappe verhindert. Es wurden E 605 f-Konzentrationen von 1 %, 0,1 %, 0,01 % und 0,001 % verwandt. Eine entsprechende Anzahl von Kontrollpflanzen blieb unbehandelt.

Ergebnis: Abb. 1—5, 14 Tage nach der letzten Spritzung fotografiert.

Nach einigen Tagen starb die mit 1%iger Brühe behandelte Wilde Melde ab. Durch E 605 f 0,1 % waren auf den Blättern gelbbraune, trockene Flecke entstanden. Brühen geringerer Konzentration wurden ohne jeden Schaden vertragen.

Bei Hafer zeigte sich ein entsprechendes Bild. 1 % tötete den Sproß ab, mit Ausnahme des Vegetationspunktes, der später neue Blätter bildete. Durch 0,1%ige Brühe wurden hier und da die Blätter gelbspitzig und trockenfleckig. Geringere Konzentrationen blieben ohne Einfluß.

An den Blättern der Vogelmiere entstanden nur nach 1%iger Spritzung Flecken.

Tomaten zeigten nach 1%iger Behandlung starke Flecken und Einrollen der Blätter. Nach 0,1%iger Spritzung traten nur vereinzelt kleine Flecken auf.

An Bohnenblätter verursachte 1%ige Brühe Braunfleckigkeit (Abb. 2). Auch 0,1%ige Brühe bewirkte noch eben erkennbare Schäden.

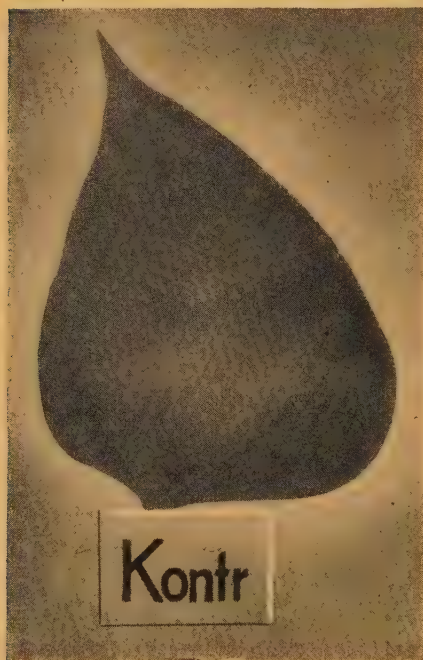


Abb. 1: Fiederblatt von *Phaseolus vulgaris* unbehandelt.

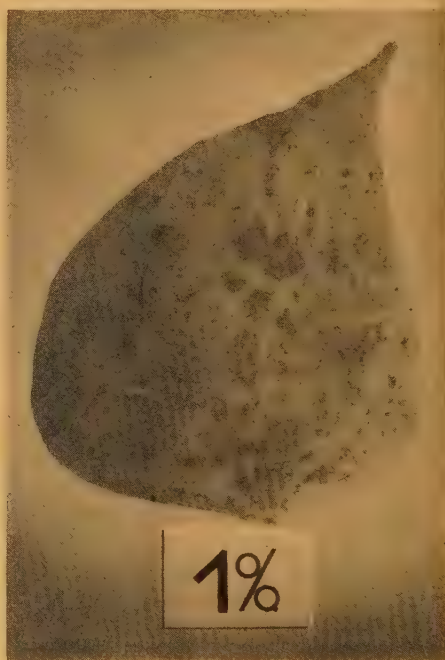


Abb. 2: Fiederblatt von *Phaseolus vulgaris* mit 1%iger E 605 f-Brühe gespritzt. Drei Tage nach der Behandlung fotografiert.

Die Selleriepflanzen vertrugen alle angewandten Konzentrationen ohne jede sichtbare Reaktion. (Abb. 3.)



Abb. 3: *Apium graveolens*. Nach mehrmaligen Sproßspritzungen mit E 605 f.

Nach der 2., 3. und 4. Spritzung traten keine wesentlichen Verschiebungen im Bilde des ersten Befundes auf.

Der mit 1%igem E 605 f behandelte Hafer starb ab. Die mit gleicher Konzentration gespritzten Vogelmieren, Tomaten (Abb. 4) und Bohnen blieben, vermutlich wegen Ausfalls wesentlicher Teile der ernährenden Blätter, stark im Wachstum zurück. Auch nach 0,1%iger Spritzung ließ sich bei Vogelmiere, Tomate und Bohne eine ganz schwache und bei der Wilden Melde eine stärkere Wachstumshemmung feststellen. Die insektiziden Gebrauchskonzentrationen (0,01 bis 0,05 % Präparatgehalt) wurden ausnahmslos gut vertragen. Nach Einstellung der Behandlung wurde die Hemmung zum Teil wieder aufgeholt (Abb. 4). Die besondere



Abb. 4: *Solanum lycopersicum*. Nach mehrmaligen Sproßspritzungen mit E 605 f.



Abb. 5: *Chenopodium album*. Nach mehrmaligen Sproßspritzungen mit E 605 f.

Resistenz der Sellerie muß wohl auf die Dicke der lipophilen Epidermisüberzüge zurückgeführt werden (Abb. 3). Bei später im Freiland durchgeführten Versuchen mit anderer Fragestellung vertrugen auch die Sprosse von *Solanum tuberosum* L. (Kartoffel), *Cucurbita pepo* L. (Kurbis) und *Vitis vinifera* L. (Weinrebe)

wiederholte Spritzungen mit 0,1%igem E 605 f in wöchentlichen Abständen ohne jeden Schaden. Die Vegetationspunkte aller behandelten Pflanzen waren im Schutz der jungen Blattanlagen sehr widerstandsfähig und blieben meist ungeschädigt. Auch ergaben sich keinerlei Anzeichen für eine Beeinflussung der mitotischen Vorgänge im Vegetationskegel.

2. Versuchsreihe:

Wurden nur einzelne Blätter der empfindlichen Pflanzen mit 1%iger Brühe bepinselt, so zeigten sich nur an diesen Schäden, wie sie bereits an den ganzen Pflanzen beschrieben wurden. Pflanzen mit wenigen Blättern blieben nach der Behandlung vorübergehend etwas im Wachstum zurück, da in diesen Fällen das behandelte Blatt einen hohen Prozentsatz der geringen Gesamtblattfläche ausmachte. Direkte Schädwirkungen an unbehandelten Blättern des gleichen Sprosses konnten jedoch in keinem Falle festgestellt werden. Selbst wenn einige Blätter mehrere Tage in 0,01%iger Brühe untergetaucht blieben, zeigte sich kein nachteiliger Einfluß auf die übrigen Sproßteile und die Vegetationspunkte bildeten in völlig normaler Weise weitere gesunde Blätter aus.

3. Versuchsreihe:

Um festzustellen, ob das schädigende Prinzip im E 605 oder im Emulgator liegt, wurden die beiden Substanzen getrennt geprüft.

Methode: Die 1%ige E 605 f-Brühe enthält 0,7 % E 605 rein und 0,3 % Emulgatorsubstanz. Von beiden Substanzen wurden entsprechende Konzentrationen hergestellt, E 605 mit Weißkohlpresse-saft emulgiert und der Emulgator in Wasser gelöst. Mit diesen beiden Brühen und reinem Weißkohlpresse-saft zur Kontrolle wurden die Blätter verschiedener gesunder Pflanzen bepinselt. Die Markierung der Blätter erfolgte durch kleine Papierfähnchen an den Blattstielen.

Ergebnis: An den mit E 605 behandelten Blättern traten nach zwei Tagen die bekannten Flecken auf, die durchschnittlich etwa 10 % der Fläche des gesamten Blattes ausmachten. Durch den Emulgator und den Weißkohlpresse-saft wurden keinerlei Schäden hervorgerufen.

2. Nach Wurzelbehandlung

Nachdem sich die Anwendung des Präparates in der üblichen Weise als völlig unschädlich für die Pflanze erwiesen hat und erst bei vielfacher Überdosierung bei einigen empfindlichen Pflanzen Schäden auftreten können, ist die weitgehende Unempfindlichkeit des Sprosses E 605 gegenüber erkannt und es galt nun, den Einfluß des Präparates auf die Wurzel zu untersuchen.

4. Versuchsreihe:

Methode: Zwei bis drei Wochen alte Pflanzen von *Avena sativa*, *Zea mays* und *Solanum lycopersicum* wurden unter größtmöglicher Schonung der Wurzeln ausgegraben und durch Abspülen mit Leitungswasser von der anhaftenden Erde befreit. Anschließend wurden sie mit den Wurzeln kurz in 0,01-, 0,1- oder 1%ige E 605 f-Brühe eingetaucht und wieder in gut ausgewaschenen Bausand von (0,3 bis) 0,7 mm Korngröße eingepflanzt, der mit normaler Knopscher Nährsalzlösung unter Zusatz der Spurenelemente als Hoaglandsche A-Z-Lösung ständig feucht gehalten wurde.

Ergebnis: Alle Pflanzen wuchsen gut an und zeigten nach Wochen das gleiche gesunde Wachstum wie die unbehandelten Kontrollpflanzen. Demnach muß die Wurzel dem Präparat gegenüber als noch weniger empfindlich angesehen werden als der Sproß, da selbst die 1%ige Brühe ohne nachteiligen Einfluß blieb.

5. Versuchsreihe:

Nun erhob sich die Frage nach dem Einfluß des Präparates auf die Pflanze bei dauernder Submersion der Wurzel in E 605 f-Brühe.

Methode: *Avena sativa* wurde in feuchtem Sand angezogen. Nachdem die Koleoptilen eine Länge von ca. 2 cm erreicht hatten, wurden sie in Bohrlöcher von Kunststoffplatten eingeführt, die eine solche Weite hatten, daß die jungen Pflanzen mit den Karyopsen gerade fest eingeklemmt werden konnten. Diese Platten wurden über flache Entwicklerschalen gelegt, die bis zum Rand mit Knopscher Nährsalzlösung gefüllt waren. Die Wurzeln tauchten in die Nährlösung ein, während sich die Sprosse oberhalb der Kunststoffplatten gesund entfalteten und weiter entwickelten (vergl. Abb. 21). Bei einer Sproßhöhe von 5 bis 6 cm wurde die Nährlösung gegen 0,01-, 0,1 bzw. 1%ige E 605 f-Brühen ausgetauscht, denen die notwendigen Nährsalze der Knopschen Lösung entsprechend zugesetzt worden waren. Die Kulturen wurden im Gewächshaus bei Temperaturen von 15° C (nachts) und 25° C (am Tage) gehalten.

Ergebnis: Bei dieser Versuchsanordnung traten nun auch Schäden auf, und zwar wurden die Haferpflanzen durch die 1%ige Brühe am nächsten Tage schlaff und welk. Die 0,1%ige Brühe rief nur an einigen wenigen Pflanzen diese Erscheinungen hervor, während die 0,01%ige Brühe zunächst im Vergleich zu den Kontrollpflanzen in reiner Knopscher Nährlösung ohne Einfluß blieb. Erst nach weiteren 14 Tagen wirkte sich auch die 0,01%ige Brühe in der Weise aus, daß die Pflanzen mit durchschnittlich 14 cm Höhe gegenüber den Kontrollpflanzen mit 20 cm Höhe etwas im Wachstum zurückgeblieben waren und eine geringe Gelbspitzigkeit aufwiesen. Eine zur Kontrolle später in gleicher Weise durchgeführte Versuchsreihe ergab ein entsprechendes Bild.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die Wurzeln eine dauernde Submersion in 0,01%iger E 605 f-Brühe ohne großen Schaden ertragen und damit dem Präparat gegenüber noch weit weniger empfindlich sind als die Blätter.

Da bei Bodendesinfektionen zum Zwecke der Abtötung tierischer Wurzelschädlinge niemals eine anhaltende Sättigung des Bodens mit E 605 f-Brühe erreicht werden kann, können bei den üblichen Aufwandmengen und Konzentrationen auch keinerlei Schäden erwartet werden.

B. Zur Frage der wuchs- und entwicklungsfördernden Wirkung

Es soll versucht werden, die Frage der Förderung zu prüfen und gegebenenfalls zu klären. Es wäre denkbar, daß entweder das Präparatmolekül selbst eine stimulierende Wirkung auf die Pflanze ausübt oder daß es eine Veränderung erfährt und dabei Stoffe entstehen, die auf die Pflanze günstig wirken. Möglicherweise könnten auch aus dem E 605-Molekül u. a. einfachste Stickstoff- und Phosphorverbindungen frei werden, denen ein Düngeeffekt zugeschrieben werden könnte.

1. Zur Frage des Stimulationseffektes

Bei den in Abschnitt I/A geschilderten Versuchsreihen wurden keinerlei Anzeichen deutlich, die die Annahme einer direkten Stimulationswirkung des Präparates auf die Pflanze berechtigt erscheinen lassen. Gegen diese Versuche könnte jedoch der Einwand erhoben werden, daß die Pflanzen unter Glas gezogen wurden und daher anderen Bedingungen ausgesetzt waren, als sie im Freiland gegeben sind. Aus diesem Grunde wurden im Mai 1948 noch einmal entsprechende

Tastversuche im Freiland durchgeführt, die abgesehen von kleinen graduellen Unterschieden zu den Gewächshausversuchen nichts prinzipiell Neues ergaben. Auch bei späteren Versuchen mit anderer Fragestellung wurde gleichzeitig immer die Wirkung des Präparates auf die Pflanze beobachtet. Aber auch hier wurden bei *Vitis vinifera* L., *Zea mays* L., *Cucurbita pepo* L., *Vicia faba* L. und *Solanum tuberosum* L. keine Erscheinungen deutlich, die für das Bestehen eines Stimulationseffekts sprechen, sondern stets zu einer Bestätigung des bereits Gesagten führten. Speziell zur Prüfung des Stimulationseffekts wurde unter Bedingungen der Praxis noch folgende Versuchsreihe angesetzt:

6. Versuchsreihe:

Methode: Im Freiland wurden Ende Mai 1948 je 30 gesunde Pflanzen von *Solanum lycopersicum* L. (Tomate) und *Nicotiana tabacum* L. (Tabak) ausgepflanzt und 3 Wochen später, als sie etwa 30 bis 40 cm hoch waren, mit 0,02%iger E 605 f-Brühe gespritzt. Eine zweite Spritzung erfolgte nach weiteren 14 Tagen. Die Pflanzen standen alle in einer Reihe mit 50 cm Abstand und neben drei gespritzten Pflanzen blieben jeweils drei zum Vergleich unbehandelt.

Ergebnis: Weder innerhalb einiger Tage nach der Spritzung noch im Verlauf der gesamten Vegetationsperiode zeigte sich irgendein Unterschied im Hinblick auf Wuchs- und Blühfreudigkeit, Laubfärbung und Fruchtbildung zwischen behandelten und unbehandelten Pflanzen.

Die vorstehend angeführten Versuche sprechen dem Präparat eine allgemeine pflanzenstimulierende Fähigkeit ab. — Ob jedoch in besonderen Fällen ein einfacher Düngeeffekt erzielt werden kann, läßt sich bei dieser Versuchsanordnung noch nicht entscheiden. Dazu ist es notwendig, künstlich Mangelerscheinungen hervorzurufen und zu prüfen, ob sich diese durch E 605-Behandlung mildern oder gar ganz beseitigen lassen. —

2. Zur Frage des Düngeeffektes

7. Versuchsreihe:

Methode: Gewöhnlicher Bausand wurde auf eine Korngröße von (0,3 bis) 0,7 mm gesiebt und so lange durchgespült, bis das Waschwasser völlig klar blieb. Anschließend wurde er in Mitscherlich-Gefäße von 21 cm Höhe und 20 cm Durchmesser gefüllt. Im Sommer 1948 wurden in diesen Sand Karyopsen von *Zea mays* bzw. Samen von *Phaseolus vulgaris* ausgelegt und die Zahl der Pflanzen nach Auskeimen auf 7 Exemplare pro Gefäß reduziert. Von *Solanum lycopersicum* wurden in jedes Gefäß zwei gesunde junge Exemplare mit vier entwickelten Laubblättern gepflanzt. Der Kultursand wurde ständig mit Knopscher Nährsalzlösung feucht gehalten, der die notwendigen Spurenelemente mit Hoaglandscher A-Z-Lösung zugegeben waren. Als zusätzliche Belüftung erwies sich der Luftstrom als ausreichend, der beim Abfließen der reichlich zugesetzten Nährlösung in die untergesetzten Schalen durch den Sandboden gesaugt wurde. Gleichzeitig wurde mit dem Durchspülen des Bodens mit frischer Nährlösung verhindert, daß sich Nährsalze durch Verdunsten des Wassers im Sand anreicherten. Je zwei Gefäße jeder Pflanzenart wurden mit vollständiger Nährsalzlösung gegossen, je zwei mit Mangellösung ohne Phosphor und je zwei mit Mangellösung ohne Stickstoff. Auf die Stickstoffmangelkultur wurde bei *Phaseolus vulgaris* verzichtet, weil die Bohne von einer Stickstoffzufuhr durch Nährsalze weitgehend unabhängig ist. Die Herstellung der Lösungen erfolgte nach der Vor-

schrift von Ruge (L. V. 17). Da die Nährstoffaufnahme und die Entwicklung der Pflanze in starkem Maße von dem Säuregrad des Substrates abhängig sind, wurde nach jedem Ansatz die Wasserstoffionenkonzentration der Nährsalzlösungen geprüft *) und, wo erforderlich, durch einen geringen Zusatz von Natronlauge oder Schwefelsäure einheitlich auf einen P_H -Bereich von 6,3 bis 6,5 eingestellt. Die Bohnenpflanzen wurden im Gewächshaus, Mais und Tomaten im Freien gehalten. — Nun lagen zwei Kulturserien vor, die sich in der Vorbehandlung durch nichts unterschieden. Auch die weitere Pflege wurde einheitlich, dem Ansatz entsprechend durchgeführt, mit dem einen Unterschied, daß eine Serie sieben Wochen lang wöchentlich einmal mit 0,01%iger E 605 f-Brühe gründlich gespritzt wurde, während die andere Serie zur Kontrolle nur entsprechend mit Leitungswasser behandelt wurde. Die Pflanzen wurden während ihrer gesamten Vegetationszeit beobachtet. Dabei waren die Erscheinungen bei den benutzten Pflanzenarten so einheitlich, daß sie sich zusammengefaßt schildern lassen:

Ergebnis: Die vollständig ernährten Pflanzen gediehen üppig und zeigten eine saftig grüne Färbung, während der Phosphormangel die Wuchsfreudigkeit stark beeinträchtigte und das Laub dunkel und bei Mais und Tomaten cyanotisch werden ließ. Der Stickstoffmangel wurde von Tomaten und Mais mit noch stärkerer Wachstumsbeeinträchtigung beantwortet und das Laub wurde chlorotisch. Diese Erscheinungen traten in gleichem Maße bei den entsprechend ernährten Pflanzen auf, gleichgültig, ob sie mit E 605 f-Brühe oder mit Leitungswasser gespritzt worden waren. Auch bei den vollständig ernährten und normal gediehenen Pflanzen blieb die E 605-Spritzung ohne Auswirkung auf die Entwicklung. (Abb. 6, 7, 8 und 9. Die Aufnahmen wurden 14 Tage nach der letzten Spritzung gemacht.)



Abb. 6: *Solanum lycopersicum* mit Wasser gespritzt.

*) Alle P_H -Messungen (bis P_H 9) wurden in dieser Arbeit nach der Chinhydron-Methode mit der Röhrenmeßkette nach Wulff-Kordatzki und dem Betriebsionometer nach Trenel der Firma Lautenschläger, München, mit einer Genauigkeit von $\pm 0,1$ durchgeführt.



Abb. 7: *Solanum lycopersicum* mit E 605 f gespritzt.



Abb. 8: *Phaseolus vulgaris*. Mitte: Mit vollst. Nährsalzlösung gegossen. Seiten: Mit Mangelsalzlösung ohne Phosphor gegossen. Links: Ganze Sprosse mit E 605 f gespritzt. Mitte: Einzelne Fiederblätter mit E 605 f bepinselt. Rechts: Unbehandelt.

Bei den Spritzungen kamen insgesamt ungefähr 300 cm^3 Spritzbrühe auf die Pflanzen in jedem Gefäß, wie durch Wägung entsprechender Pflanzen vor und nach der Spritzung festgestellt wurde. 300 cm^3 enthalten $2,84 \text{ mg}$ gebundenen Phosphor und $1,28 \text{ mg}$ gebundenen Stickstoff. Diese Mengen sind allerdings zu klein, um den Mangel an diesen Ionen in den entsprechenden Nährsalzlösungen völlig

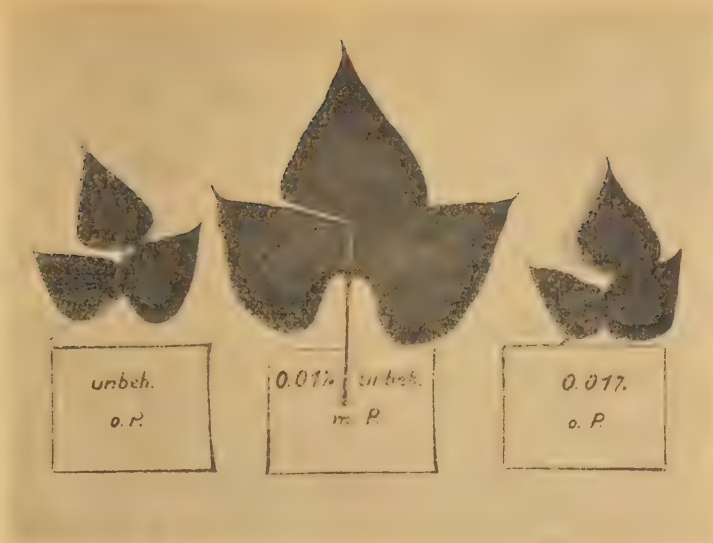


Abb. 9: Einzelne Blätter der Pflanzen von Abb. 8. Mitte: Ein Fiederblatt behandelt.



Abb. 10: *Avena sativa*. Mit Mangelsalzlösung ohne Phosphor gegossen. Rechts mit E 605 f, links mit Wasser gespritzt.

auszugleichen. Denn 300 cm³ vollständiger Knopscher Nährsalzlösung enthalten dem Bedarf der Pflanze entsprechend 17,1 mg Phosphor und 61,8 mg Stickstoff. Aber eine Abschwächung der Mangelercheinungen könnte trotzdem erwartet werden, wenn sich die Pflanze den Phosphor- und Stickstoffgehalt des Präparates nutzbar machen könnte, zumal durch Spritzungen mit geringen Mengen eines

anderen Präparates, das Phosphor und Stickstoff in verwertbarer Form abgibt, die Mangelercheinungen ganz deutlich in günstigem Sinne beeinflußt werden konnten.

8. Versuchsreihe:

Um zu prüfen, welche Bindungen im E 605-Molekül die ernährungsphysiologische Nutzung des Stickstoffs und Phosphors verhindern, sollte nun festgestellt werden, ob mit den beiden E 605-Bausteinen Paranitrophenol und Diäthylthio-

Abb. 11:
Solanum lycopersicum mit vollst. Nährsalzlösung gegossen.



Abb. 12:
Solanum lycopersicum mit Mangelsalzlösung ohne Phosphor gegossen.



phosphorsäure einzeln ein Stimulations- oder Düngeeffekt erzielt werden kann. Außerdem interessierte es in diesem Zusammenhang, ob sich das Präparat E 600 anders als E 605 verhält, von dem es sich in seiner chemischen Struktur nur dadurch unterscheidet, daß es im Molekül statt des Schwefelatoms ein Sauerstoffatom enthält, wodurch möglicherweise die Phosphorsäure der Pflanze leichter zugänglich sein könnte.

Methode: In gleicher Weise, wie in der 7. Versuchsreihe wurden im Spätherbst 1948 in 12 Mitscherlich-Gefäßen Kulturen mit je zwei jungen Tomatenpflanzen in Sand angelegt und im Gewächshaus bei Temperaturen von 12 bis 22° C gehalten. Die Gefäße

- 1, 4, 7 und 10 wurden mit vollständiger,
- 2, 5, 8 und 11 mit phosphorfreier und
- 3, 6, 9 und 12 mit stickstofffreier Nährsalzlösung

gegossen. Die Pflanzen in den Gefäßen 1 bis 3 blieben zur Kontrolle unbehandelt, während die Pflanzen in den anderen Gefäßen sieben Wochen lang allwöchentlich mit Präparatlösungen gespritzt wurden, und zwar 4 bis 6 mit 0,02%iger E 600-Brühe, 7 bis 9 mit wässriger Paranitrophenollösung mit 0,071 g Substanz pro Liter und 10 bis 12 mit wässriger Diäthylthiophosphorsäurelösung mit 0,089 g Substanz pro Liter. Die Mengen der beiden letzten Präparate entsprechen den

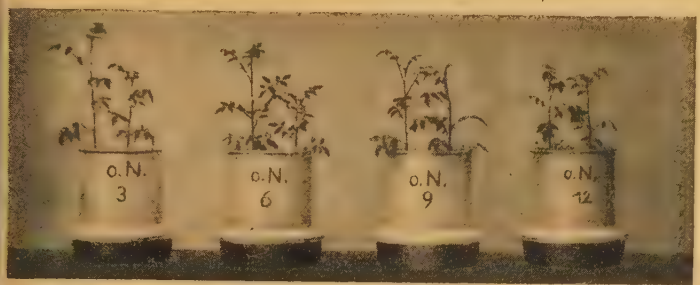


Abb. 13:
Solanum lycopersicum mit Mangelsalzlösung ohne Stickstoff gegossen.



Abb. 14:
Solanum lycopersicum ohne Präparat.

Mengen, die in einer 0,02%igen E 605 f-Brühe enthalten sind. Durch Spritzungen wurden ungefähr 300 cm³ der Lösungen auf die Pflanzen und durch Gießen in der ersten und dritten Woche 200 cm³ auf den Sandboden eines jeden Gefäßes gebracht. Durch diese Behandlung gelangten ca. 9,5 mg Phosphor und ca. 4,3 mg Stickstoff in die Gefäße.

Ergebnis: Auch hier gediehen die vollständig ernährten Pflanzen hervorragend, während die Nährsalzmangelkulturen die im Ergebnis der 7. Versuchsreihe genannten Kümmererscheinungen zeigten. Die Behandlung mit den drei Präparaten blieb hier ebenfalls bei allen Pflanzen ohne jeden Einfluß (Abb. 11 bis 17 *) 14 Tage nach der letzten Behandlung aufgenommen). Es ist demnach anzunehmen, daß die Pflanze weder die Nitro-Phenyl- noch die Phosphor-Äthyl-

*) Für die fotografischen Aufnahmen bin ich Herrn Dr. Noack zu Dank verpflichtet.



Abb. 15: Mg E 600.



Abb. 16:
Mit Paranitrophenol



Abb. 17:
Mit Diäthylthiophosphorsäure.

Bindung zu lösen vermag, und daß aus diesem Grunde der Phosphor und der Stickstoff ungenutzt bleiben.

9. Versuchsreihe:

Da bei den bisherigen Versuchen keine Düngewirkung durch Behandlung der Pflanzen mit E 605 und seinen beiden Hauptbausteinen erzielt werden konnte, sollte es noch mit Pflanzen versucht werden, die eine physiologische Sonderstellung einnehmen. *Drosera capensis* und *Drosera spathulata* sind als Insektivoren normalerweise dazu befähigt, aus hochmolekularen organischen Verbindungen Phosphor und Stickstoff in verwertbarer Form zu entnehmen. Ob ihnen diese beiden Nährstoffe im E 605-Molekül zugänglich sind, sollte der folgende Versuch zeigen:

Methode: 25 junge Exemplare von *Drosera capensis* und 25 von *Drosera spathulata* auf nassem Torf wurden während fünf Wochen fünfmal mit 0,01%iger E 605 f-Brühe gespritzt. Die gleiche Anzahl von Pflanzen wurde entsprechend nur mit Leitungswasser behandelt. Während der gesamten Versuchsdauer und schon fünf Wochen vorher wurden Insekten, die als Stickstoff- und Phosphorspender auftreten konnten, durch feinmaschige Drahtgeflechte ferngehalten. —

Ergebnis: Auch hier blieb jede Beeinflussung des Gedeihens durch die E 605-Spritzungen aus. Damit verhält sich *Drosera* in diesem Falle physiologisch ebenso wie die übrigen Pflanzen.

C. Zur Frage der Wirkung auf Zelle und Gewebe

Eine histologische Veränderung der behandelten aber gesund gebliebenen Blätter konnte weder an Oberflächen- noch an Blattquerschnitten mikroskopisch festgestellt werden. Für die Fleckenbildung an besonders empfindlichen Pflanzen ließ sich nachweisen, daß sie mit Abtötung des Plasmas, Entfärbung und Zerfall der Chloroplasten und nachfolgender Auflösung eines Teils der Zellmembranen einhergeht. Flecken zeigten also stets tote Zellen an. Von der Nekrose blieben die Blattnerven zunächst immer verschont. Doch ließ sich keine Regel aufstellen bezüglich der Lage der Flecken zu stärkeren oder schwächeren Nerven (vergl. Abb. 2).

Auch cytologisch waren gesund gebliebene aber behandelte Blätter weder nach Stunden, noch nach Tagen und Wochen irgendwie von unbehandelten Blättern zu unterscheiden. Obwohl keine Farbtönungen auftraten, wurde besonders auf Zahl, Größe und Farbenintensität der Chloroplasten in den einzelnen Zellen geachtet. Aber zahlreiche Vergleiche an verschiedenen Pflanzen ließen keine Unterschiede erkennen.

Um an einem Beispiel den Einfluß von E 605 auf die Zelle in einem kleinen Gewebstück zu beobachten, wurden folgende Versuche angestellt:

10. Versuchsreihe:

Von *Allium cepa* L. wurden Zwiebelschuppen nach der von Strugger (L. V. 25) vorgeschlagenen Methode auf ihrer Konkavseite oberflächlich mit einem scharfen Rasiermesser in kleine Quadrate von ca. 3 mm Seitenlänge zerschnitten und in einem allmählich erzeugten Vakuum einer Wasserstrahlpumpe bei ca. 50 mm Quecksilberdruck entlüftet. Anschließend konnten die kleinen Quadrate der Innen-Epidermis unter größtmöglicher Schonung abgehoben werden. —

Diese einschichtigen Gewebestücke vertrugen E 605 f zunächst ohne jede strukturelle Veränderung ihrer Zellen und zeigten nach 2¹/₂stündigem Einlegen in 1%iges E 605 f völlig normale Plasmolysierbarkeit. Wurden die Zellen in 0,01%ige Brühe gebracht, so ließ sich noch nach 40 Stunden eine normale Plasmolyse durchführen (Abb. 18 A, B). Als Plasmolytikum diente eine einfache molare Kaliumnitratlösung. — Wurde jedoch zunächst mit KNO₃ eine Plasmolyse herbeigeführt und mit Leitungswasser wieder rückgängig gemacht, so zeigte sich nach

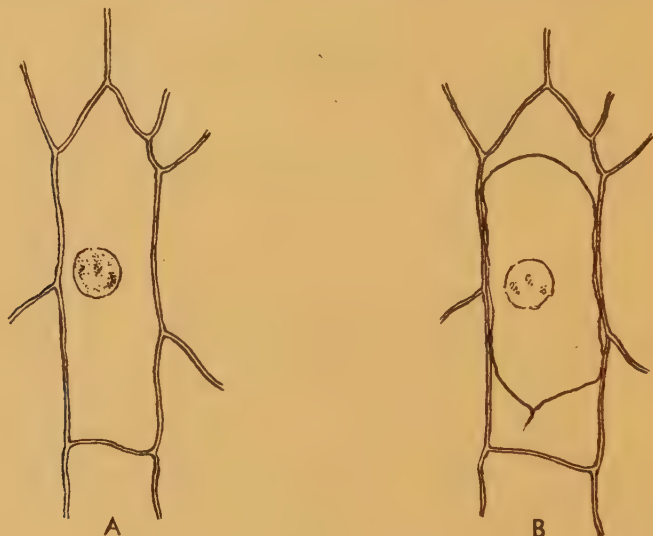


Abb. 18 a: Normale Plasmolyse nach vorangegangener E 605 f-Behandlung.

Zusatz von 0,001%iger E 605 f-Brühe oder eines Tropfens gesättigter wässriger Lösung von E 605 rein an dem Rand des Deckglases wiederum keine Veränderung. Erst bei erneuter Plasmolyse traten neue Verhältnisse auf. Die Plasmolyse, die nach wie vor dem Plasmolyticum entsprechend eine Konvexplasmolyse war, setzte etwa doppelt so schnell ein und von der Vakuolenwand lösten sich kugelförmige Tröpfchen und verteilten sich im Zellsaft, von dem sie sich durch ihre Lichtbrechung unterschieden. Während diese Erscheinung bei E 605 f-Zugabe in fast allen Zellen auftrat, zeigten Zellen, die entsprechend, aber ohne E 605 behandelt worden waren, nur ganz vereinzelt andeutungsweise diesen Effekt. Die Tröpfchen wiesen Größen von der des Zellkernes abwärts bis zur mikroskopischen Sichtbarkeitsgrenze auf. Zellen mit rund 30 solcher Tröpfchen waren nicht selten. Insgesamt nahmen sie vielfach ¹/₅ der Vakuole ein (Abb. 18 D). Nach erfolgtem Zelltod, der nach dieser Behandlung leicht eintrat, lösten sich diese Tröpfchen wieder auf (Abb. 18 E). Die Vermutung, sie bestünden aus permeiertem E 605 läßt sich nicht aufrechterhalten, da die Menge durch den zugegebenen Tropfen der starken E 605-Verdünnung von 0,001 % nicht erklärbar ist. Viel treffender wird diese Erscheinung wohl als Lipophanerose gedeutet, die *Lepeschkin* (L. V. 13, S. 14—16) als häufiges Kennzeichen bei allmählich eintretenden Zell-Nekrobiosen angibt, und für die Art der Schädigung weitgehend unspezifisch sein soll.

Die genannte Tröpfchenbildung, die zweifellos vom Plasma ausgeht, tritt erst nach vorausgegangener Plasmolyse und Deplasmolyse in Gegenwart von E 605 auf, und zwar sowohl wenn das Präparat mit dem Emulgator gemischt vorliegt, als auch im Zustand einer reinen gesättigten wässerigen Lösung. Man könnte nun annehmen, daß das Präparat erst dann das Plasmalemma zu durchdringen und das Plasma zu beeinflussen vermag, wenn diese Plasmagrenzschicht besonders durch eine vorausgegangene rasche Deplasmolyse verletzt wurde. Doch

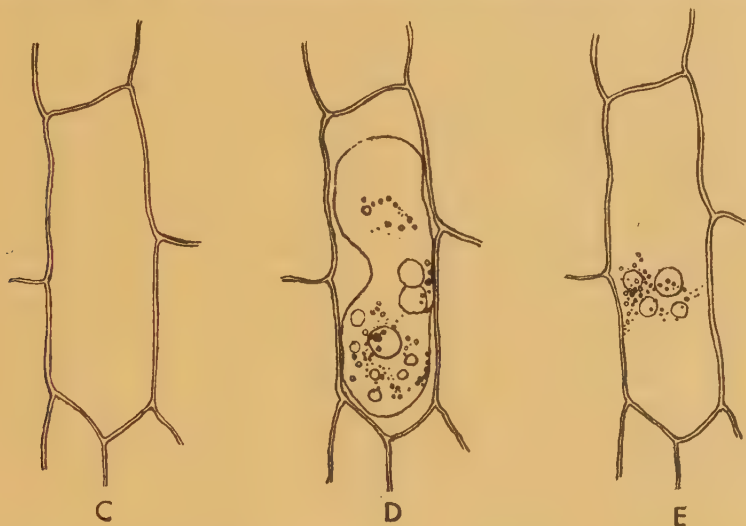


Abb. 18b:

Erneute Plasmolyse und Deplasmolyse nach vorangegangener Plasmolyse, Deplasmolyse und E 605-Behandlung.

läßt die ausgesprochene Lipoidlöslichkeit des Präparates diese Deutung zumindest sehr fraglich erscheinen, und eine andere Beobachtung, auf die später eingegangen werden soll, spricht dagegen. Mehr Wahrscheinlichkeit hat die Deutung für sich, daß das Präparat nur sehr langsam verlaufende physiologische Prozesse stört und es nur dann zu einer akuten Schädigung kommt, wenn ein zweites schädigendes Prinzip hinzukommt, das hier in den rasch verlaufenden Plasmolysevorgängen liegt (*Lepeschkin*, L. V. 13, S. 81—83). Auch zeigt die Tatsache, daß die Zellen der Innen-Epidermis von Zwiebschuppen auch dann noch normal plasmolysierbar waren, wenn sie 40 Stunden in 0,01%iger Brühe gelegen hatten, daß das Präparat zumindest kein plötzlich wirkendes Zellgift ist. Auch scheint es kein starkes Zellgift zu sein, sonst könnten sich, wie bereits erwähnt, keine Algen in E 605 f-Brühe ansiedeln.

D. Auswertung der Ergebnisse

Zur Prüfung des Einflusses von E 605 auf den Habitus und das Gewebe von Angiospermen wurden Versuche mit Vertretern verschiedener Familien und Ordnungen angestellt. Es ergab sich hierbei, daß Spritzungen mit den insektiziden Gebrauchskonzentrationen (0,01 bis 0,05 %) von allen geprüften Pflanzenarten ohne jeden Schaden vertragen wurden. Auch durch mehrfache Wieder-

holungen der Spritzungen in einwöchigen Abständen kam es zu keiner phyto-toxischen Anreicherung des Präparates in der Pflanze. 0,1%ige Spritzbrühe verursachte in einigen Fällen geringe Blattschäden, die aber von allen Pflanzen, mit Ausnahme des besonders empfindlichen *Chenopodium album*, sehr bald wieder wettgemacht wurden. 1%ige Spritzbrühe blieb auf *Apium graveolens* ohne jeden schädlichen Einfluß. Durch Überdosierungen verursachte Gewebstnekrosen blieben ausnahmslos auf die behandelten Sproßorgane beschränkt, und das Gesamtwachstum der Pflanze wurde nur dann beeinträchtigt, wenn durch ausgedehnte Schäden ein wesentlicher Teil des assimilierenden Blattwerkes ausgefallen war. Keinerlei Anzeichen deuteten auf eine Beeinflussung der mitotischen Vorgänge in meristematischen Zellen hin. Wirkungen, die auf den Emulgator zurückzuführen wären, traten nicht auf. In keinem der angestellten Versuche konnte an nicht von Parasiten befallenen Pflanzen eine Förderung des Wachstums oder eine kräftigere Laubfärbung durch E 605 f-Spritzungen festgestellt werden. Eine allgemeine pflanzenstimulierende Fähigkeit des Präparates dürfte demnach nicht vorliegen. Ebenfalls muß dem Präparat zumindest in seiner praktischen Anwendung eine Düngewirkung abgesprochen werden, da auch ausgeprägte Phosphor- und Stickstoffmangelerscheinungen durch erheblich größere E 605-Gaben, als sie in der Praxis üblich sind, nicht im geringsten beeinflußt wurden. Ferner darf mit einem gewissen Recht angenommen werden, daß die Pflanze aus dem E 605-Molekül überhaupt keine Nährionen zu entnehmen vermag. Ein eindeutiger Beweis wäre freilich dafür erst dann gegeben, wenn so viel E 605 in die Pflanze gebracht würde, daß damit theoretisch ihr gesamter Phosphor- und Stickstoffbedarf gedeckt werden könnte. Dann müßte aber die Mangel-salzlösung als Phosphorersatz 0,08 % E 605 f enthalten und als Stickstoffersatz sogar 0,6 %. Doch diese Konzentrationen sind als Nährmedien für die Wurzeln ohne Schädwirkungen auf die gesamte Pflanze nicht anwendbar. Ebenso schlecht liegen die Verhältnisse, wenn man die entsprechenden Phosphor- und Stickstoff-mengen durch E 605 f-Spritzungen auf die Pflanze bringen wollte. Dann müßte das Präparat mindestens zehnmals konzentrierter angewandt werden, also mit 0,8 bzw. 6 %. Hier würden die auftretenden Pflanzenschädigungen ebenfalls die Auswertung des Versuches unmöglich machen. Es muß also in diesem Falle auf eine vollständige Beweisführung für die ernährungsphysiologische Bedeutungslosigkeit des Phosphors und Stickstoffs im E 605-Molekül verzichtet und mit der recht großen Wahrscheinlichkeit vorliebgenommen werden.

So läßt sich bis jetzt für die von Praktikern beobachtete Wachsförderung der Pflanzen und die intensivere Laubfärbung nach E 605-Behandlung keine andere Deutung geben als die, daß nach Ausfall wenig auffälliger tierischer Parasiten die Pflanzen besser gedeihen, und daß durch Lösung von E 605 in den lipophilen Epidermisüberzügen eine Glättung der Oberfläche stattfindet und so ein rein optischer Effekt die Blätter saftiger erscheinen läßt.

Eine histologische Veränderung behandelter aber gesund gebliebener Blätter war an mikroskopischen Schnitten nicht festzustellen. Größe, Zahl und Färbung der Chloroplasten blieben unverändert.

Epidermiszellen der Zwiebelschuppen von *Allium cepa* vertrugen vielstündiges Einlegen in E 605 f-Brühe ohne erkennbare Schäden. Eine Schädigung, die als Lipophanterose gedeutet wurde, konnte nur dann beschleunigt herbeigeführt werden, wenn der E 605-Zugabe eine kräftige Plasmolyse und Deplasmolyse vorausgegangen waren.

Der E 605-Nachweis mit Hilfe des Fliegentestes

Die folgenden Versuchsreihen machen einen qualitativen und quantitativen Nachweis von E 605 und die Auswahl einer für diesen Zweck geeigneten Methode erforderlich.

Die Stubenfliege (*Musca domestica* L.) ist eines der meist benutzten Testtiere bei Untersuchungen von Chemikalien auf ihre insektizide Wirksamkeit. Sie kann verhältnismäßig leicht in großer Menge in geheizten Räumen zu jeder Jahreszeit gezogen werden und spricht als Imago auf sehr kleine Mengen fast aller Insektizide an. Bei den meisten Versuchsbedingungen läßt sie sich, wenn sie keiner Giftwirkung ausgesetzt ist und mit Zucker und Wasser gefüttert wird, tagelang halten. Auch zeigt sie keine Abneigung gegen feuchte Unterlagen, so daß sowohl trockene als auch feuchte Substanzen mit ihr geprüft werden können.

Nach einigen Vorversuchen schien aus diesem Grunde die Stubenfliege das geeignete Testtier zum qualitativen und quantitativen Nachweis von E 605 zu sein. Zu Kontrollzwecken wurde auch anfangs mit dem Kornkäfer (*Calandra granaria* L.) gearbeitet. Da er aber auf E 605 nicht so schnell anspricht wie die Stubenfliege, die Versuche sich über mehrere Tage hinzogen und es vielfach darauf ankam, den Wirksamkeitszustand des Präparates innerhalb eines kurzen Zeitraumes festzustellen, wurde der Kornkäfer erst später wieder fallengelassen. Die Versuche mit Kornkäfern und Fliegen verliefen prinzipiell vollkommen gleichsinnig. Darum kann in der Darstellung der Versuche auf die Erwähnung der Kornkäfer-Testreihen verzichtet werden.

A. Methode

Zu Testzwecken standen Fliegen zur Verfügung, die auf Pferdemist mit Quarkzusatz gezogen wurden. Nach dem Schlüpfen erhielten sie zusätzlich Zuckerwasser als Futter. Zum Testen wurden sie frühestens 2 Tage und spätestens 8 Tage nach dem Schlüpfen verwandt. Sie wurden aus den Zuchtkäfigen zu 10 bis 20 Stück in 1-Liter-Gläser mit einem Öffnungsdurchmesser von 10 cm abgefüllt, die anschließend sofort mit der Öffnung nach unten auf Glasscheiben oder Petrischalenhälften mit der zu prüfenden Substanz aufgestellt wurden. Nur in wenigen Fällen, die im Text besonders erwähnt sind, wurde mit 2-Liter-Gläsern und einer entsprechend größeren Zahl von Fliegen gearbeitet. Die Zeit des Aufsetzens der Fliegen wurde vermerkt und beobachtet, wann die erste Fliege in den einzelnen Gläsern lauf- und flugunfähig wurde, wann 50 % der Fliegen dieses Excitationsstadium erreicht hatten und schließlich wann 100 % der Fliegen auf den einzelnen Proben zu keiner sinnvollen Bewegung mehr fähig waren. Die verstrichenen Zeiten wurden in Minuten notiert. Da aber der physiologische Tod bei den Fliegen nur sehr schwer exakt zeitlich festgestellt werden kann, wurde nur die völlige Lauf- und Flugunfähigkeit registriert. Dieses Vorgehen ist insofern berechtigt, als es bei E 605-Vergiftungen eine Erholung aus diesem Zustand nicht gibt. Flüssige Proben wurden vorher geschüttelt und zu 1 cm³ auf Glas möglichst gleichmäßig verteilt oder mit 3 cm³ auf Filterpapierscheiben von 10 cm Durchmesser aufgetragen, so daß das Papier vollständig durchtränkt und von einem kontinuierlichen Flüssigkeitsfilm überzogen war. Breiartige Proben wurden zu ca. 1 g auf eine entsprechende Glasfläche von 78,5 cm² gleichmäßig ausgebreitet und so mit Fliegen besetzt. Stets wurden den Fliegen einige Körnchen Rohrzucker als Futter zugegeben. Wenn trockene Substanzen, wie ganze Früchte oder Blätter

auf ihren Wirkstoffgehalt geprüft werden sollten, wurden für die Fliegen einige Tropfen Leitungswasser auf die Glasunterlage gegeben. Sauerstoff war unter den Gläsern immer in ausreichender Menge vorhanden. Da die Fliegen in ihrer Empfindlichkeit gegenüber E 605 eine gewisse Temperaturabhängigkeit zeigen, wurde nur bei Temperaturen zwischen 20 und 25° C getestet. Auch blieben sie unter ständiger Beleuchtung. Den einzelnen Testserien wurden Kontrollgläser mit entsprechenden Substanzen eingefügt, die sich nur dadurch von den übrigen Proben unterschieden, daß sie nicht mit dem Insektizid in Berührung gekommen waren.

Anfangs konnten mehrere Testserien nicht ausgewertet werden, weil die Kontrollfliegen, wenn auch verzögert, doch innerhalb weniger Stunden starben. Dann wurde festgestellt, daß für Gläser, die mit E 605 in Berührung gekommen waren, die normalen Reinigungsmethoden mit heißem Sodawasser, den üblichen Säuren oder Laugen, nicht ausreichten, daß vielmehr der mechanischen Reinigung eine Erhitzung im Trockenschrank auf 200° C*) folgen muß, wenn man völlig sicher gehen will, daß die Testgläser frei von jeder Präparatspur sind. Unter Berücksichtigung dieser Erkenntnis und der Regel, nichts anzufassen, womit die Testfliegen in direkte Berührung kommen, konnten diese Fehlerquellen völlig ausgeschaltet werden. Bei Messern, Scheren, Pinzetten usw. genügte auch eine sorgfältige Reinigung mit Äther oder Methylenchlorid.

B. Genauigkeit und Grenze des quantitativen Nachweises

Wenn es darum geht, kleinste Mengen biologisch hochwirksamer Substanzen nachzuweisen, reichen vielfach mikrochemische Nachweismethoden nicht aus, und es muß der biologische Test herangezogen werden. So werden auch allgemein Wuchsstoffe, Vitamine und Hormone im Pflanzen- oder Tierversuch quantitativ mit erheblich größerer Empfindlichkeit bestimmt, als es mit chemischen Methoden möglich ist. Ähnlich liegen die Verhältnisse bei den modernen Kontaktinsektiziden. Auch bei E 605 in kleinsten Mengen ist der biologische Nachweis unübertroffen. Die Stubenfliege ist zwar nicht das empfindlichste Tier gegenüber E 605, aber doch das empfindlichste von denjenigen, die für unsere Zwecke vollauf geeignet sind. Ein Nachteil der Fliege ist ihre Flugfreudigkeit. Es ist nicht möglich, sie ohne Nachteil für ihre normale Vitalität dauernd mit der behandelten Unterlage in Berührung zu halten. Ferner unterliegen alle biologischen Tests gewissen Schwankungen, die zum Teil auf individuelle Eigenschaften der Testorganismen und zum Teil auf nur sehr schwer kontrollierbare Außenbedingungen zurückzuführen sind. Um die Auswirkung dieser Fehlerquellen möglichst gering zu halten, wurde nur mit weitgehend einheitlichem Fliegenmaterial gearbeitet. Proben, die bezüglich ihres Wirkstoffgehaltes verglichen werden sollten, wurden, soweit es der Fragestellung nicht widersprach, zu gleicher Zeit getestet. Ferner wurden alle Ergebnisse durch mehrfache Wiederholung der Versuche gesichert.

Im Folgenden soll nun versucht werden, die biologische Streuung des Fliegentestes quantitativ zu charakterisieren und die unterste Nachweisbarkeitsgrenze für unsere Versuche zu bestimmen.

Um ein Urteil über die Zuverlässigkeit des Fliegentestes zu gewinnen, wurden (Fehlerberechnung nach Sirk, L. V. 22) die Resultate von 10 bzw. 100 Einzeltesten jeder benutzten E 605 f-Konzentration miteinander verglichen und ihre Abweichung vom arithmetischen Mittelwert (M) als Testfehler (x) berechnet. Die algebraische Summe dieses Fehlers ist selbstverständlich gleich 0. Nun wurden

*) Nach Vorschlag von Dr. Noack, Höfchen.

aber die Fehler nur ihrem Betrage x nach ohne Berücksichtigung der Vorzeichen addiert und diese Summe durch n, die Anzahl der Einzelteste, geteilt und so eine von 0 verschiedene Größe, der durchschnittliche Fehler η erhalten.

$$\text{Durchschnittlicher Fehler } \eta = \frac{\sum [x]}{n}$$

In nachfolgender Tabelle 1 werden ferner noch zur Begrenzung des gesamten Streubereiches der sehr seltene positive und negative Extremfehler (E) angegeben, wobei der Index unten rechts neben der Zahl angibt, wie oft dieser Extremfehler bei 10 bzw. 100 Einzelmessungen vorkam. Wegen der Bedeutung, die der E 605 f-Konzentration von 0,01 % in dieser Arbeit zukommt, wurden bei dieser auch 100 Einzelteste zur Berechnung herangezogen.

Tabelle 1

Zeiten vom Aufsetzen der 10—20 Stubenfliegen auf die Proben bis zu ihrer Lauf- und Flugunfähigkeit (†) in Minuten:

1. Beobachtung: Zeit bis zur Lauf- und Flugunfähigkeit der ersten Fliege.
2. Beobachtung: Zeit bis zur Lauf- und Flugunfähigkeit von 50 % der Fliegen.
3. Beobachtung: Zeit bis zur Lauf- und Flugunfähigkeit von 100 % der Fliegen.

E 605 f-Konzentration	Anzahl der Einzelteste n	1. Beobachtung 1. Fliege †			2. Beobachtung 50% Fliegen †			3. Beobachtung 100% Fliegen †		
		Mittelwert M	Durchschnittlicher Fehler η	Extremfehler E	Mittelwert M	Durchschnittlicher Fehler η	Extremfehler E	Mittelwert M	Durchschnittlicher Fehler η	Extremfehler E
C %										
1%	10	11'	$\pm 2 = 18,2\%$	$+ 3_2$ $- 4_1$	18'	$\pm 4 = 22,2\%$	$+ 7_2$ $- 8_1$	23'	$\pm 5 = 21,7\%$	$+ 12_1$ $- 8_2$
0,1%	10	15'	$\pm 3 = 20,0\%$	$\pm 5_3$	25'	$\pm 4 = 16,0\%$	$+ 6_1$ $- 10_1$	42'	$\pm 6 = 14,3\%$	$+ 10_1$ $- 7_1$
0,01%	10	33'	$\pm 7 = 21,2\%$	$+ 20_1$ $- 13_1$	50'	$\pm 9 = 18,0\%$	$\pm 15_2$	74'	$\pm 12 = 16,4\%$	$+ 36_1$ $- 22_1$
0,01%	100	40'	$\pm 10 = 25,0\%$	$+ 35_1$ $- 20_3$	55'	$\pm 13 = 23,7\%$	$+ 45_1$ $- 28_1$	77'	$\pm 18 = 23,4\%$	$+ 73_1$ $- 37_1$
0,001%	10	90'	$\pm 24 = 26,7\%$	$+ 60_1$ $- 35_1$	125'	$\pm 21 = 16,8\%$	$+ 43_1$ $- 44_1$	165'	$\pm 17 = 10,3\%$	$+ 25_1$ $- 35_1$
0,0001%	10	360'	$\pm 111 = 30,9\%$	$+ 180_1$ $- 225_1$	530'	$\pm 122 = 23,0\%$	$+ 190_1$ $- 360_1$	940'	$\pm 290 = 30,9\%$	$+ 560_2$ $- 610_1$

Mit welchen Fehlern bei Versuchen zu rechnen ist, die mit der gleichen Fliegengeneration zu gleicher Zeit durchgeführt werden, zeigt Tabelle 1a für 0,01%ige E 605 f-Brühen.

Tabelle 1a

E 605 f-Konzentration	Anzahl der Einzelteste	1. Beobachtung 1. Fliege †			2. Beobachtung 50% Fliegen †			3. Beobachtung 100% Fliegen †		
		Mittelwert	Durchschnittlicher Fehler	Extremfehler	Mittelwert	Durchschnittlicher Fehler	Extremfehler	Mittelwert	Durchschnittlicher Fehler	Extremfehler
	C %	M	η	E	M	η	E	M	η	E
0,01 %	10	46'	$\pm 4 = 8,7\%$	+ 9 ₁ - 11 ₁	55'	$\pm 5 = 9,1\%$	+ 9 ₁ - 13 ₁	75'	$\pm 6 = 8,0\%$	+ 20 ₁ - 10 ₁

Wie zu erwarten, ist nun die Genauigkeit größer als vorher, da ein wesentlicher Teil der Fehlerquellen ausgeschaltet wurde.

Mit vorstehenden Tabellen ist die Möglichkeit gegeben, Werte aus Einzeltesten hinsichtlich der vorliegenden E 605 f-Konzentrationen zu beurteilen. Da aber alle Versuche und Versuchsreihen mit mehrfacher bis vielfacher Wiederholung durchgeführt wurden, gestattet der Vergleich der Mittelwerte (M) aus den Wiederholungen unter Berücksichtigung des „wahren“ mittleren Fehlers in kritischen Fällen eine zuverlässige Beurteilung.

$$\text{„Wahrer“ mittlerer Fehler des Mittelwertes } m_M = \pm \sqrt{\frac{\sum [x]^2}{n \cdot (n-1)}}$$

Hier bedeuten x die Abweichungen vom Durchschnittswert der Wiederholungsteste und n die Anzahl der Einzelteste, die zur Gewinnung des Durchschnittswertes durchgeführt wurden. Der Unterschied zwischen zwei Versuchsserien gilt dann als „statistisch gesichert“, wenn er größer ist als der dreifache mittlere Fehler.

Die Mittelwerte und die „wahren“ mittleren Fehler sind in Tabelle 2 für Teste, die an verschiedenen Tagen durchgeführt wurden, zusammengefaßt und in Tabelle 2a für diejenigen, die mit der gleichen Fliegengeneration zu gleicher Zeit angesetzt wurden.

Zur Sicherung der Testergebnisse wurde stets für jedes Testglas notiert, nach welcher Zeit die erste Fliege in dauernde Rückenlage kam, wann 50 % der Fliegen und wann alle Fliegen lauf- und flugunfähig wurden. Doch erscheint es berechtigt, in den späteren Darstellungen der besseren Übersicht wegen in manchen Fällen nur anzugeben, nach welcher Zeit die letzte Fliege in dauernde Rückenlage kam. Die vorstehenden Tabellen beweisen hinlänglich, daß sich beim Fliegen-test die drei Beobachtungen bezüglich ihrer Zuverlässigkeit nahezu gleichwertig gegenüberstehen. Mit dem Fliegentest können also Konzentrationsunterschiede festgestellt werden. Mit Sicherheit sind in jedem Falle sogar mit nur einem einzigen Vergleichstest Konzentrationen zu unterscheiden, die um eine Dezimalstelle voneinander abweichen. Erheblich größere Feinheiten können mit Sicherheit mit mehrfachen Wiederholungen aus dem Test herausgeholt werden. — Abgesehen von der Zufälligkeit, wie lange sich die einzelnen Fliegen auf der behandelten Fläche aufhalten, ist die Sterbegeschwindigkeit der Fliegen von der Größe der behandelten Fläche und der angewandten Konzentration abhängig. Es wurde daher stets auf eine möglichst gleichmäßige Verteilung der Proben auf die Fläche der Testglasöffnung (78,5 cm²) geachtet. Dabei spielt es nachweislich keine Rolle, ob z. B. 1 g Pflanzengewebsbrei mit E 605 oder 10 g auf die gleiche Fläche verteilt werden, oder ob 3 cm³ E 605 f-Brühe einer bestimmten Konzen-

Tabelle 2

E 605 f-Konzentration	Anzahl der Einzelteste	1. Beobachtung 1. Fliege †		2. Beobachtung 50% Fliegen †		3. Beobachtung 100% Fliegen †	
		Mittelwert	w. mittlerer Fehler	Mittelwert	w. mittlerer Fehler	Mittelwert	w. mittlerer Fehler
‰	n	M	mm	M	mm	M	mm
1‰	10	11'	$\pm 7,6 = 7,3\%$	18'	$\pm 1,8 = 10,0\%$	23'	$\pm 2,4 = 10,4\%$
0,1‰	10	15'	$\pm 1,2 = 8,0\%$	25'	$\pm 1,7 = 6,8\%$	42'	$\pm 6,9 = 16,4\%$
0,01‰	10	33'	$\pm 3,3 = 10,0\%$	50'	$\pm 3,3 = 6,6\%$	74'	$\pm 5,3 = 7,2\%$
0,001‰	10	90'	$\pm 10,6 = 11,8\%$	125'	$\pm 8,3 = 6,6\%$	165'	$\pm 6,7 = 4,1\%$
0,0001‰	10	360'	$\pm 44,0 = 12,2\%$	530'	$\pm 54,0 = 10,2\%$	940'	$\pm 122,0 = 13,0\%$

Tabelle 2a

0,01‰	10	46'	$\pm 1,7 = 3,7\%$	55'	$\pm 2,0 = 3,6\%$	75'	$\pm 2,7 = 3,6\%$
-------	----	-----	-------------------	-----	-------------------	-----	-------------------

tration auf eine Filterpapierscheibe gegeben werden, die dann von einem Flüssigkeitsfilm überzogen ist, oder ob 1 cm³ dieser Brühe auf Glas gleichmäßig verteilt vorliegt. Ferner fällt auch nicht ins Gewicht, ob 1 cm³ E 605 f-Brühe auf der gleichen Glasfläche in angetrocknetem oder feuchtem Zustand getestet wird. Beim Antrocknen erhöht sich zwar die Konzentration des Belages, aber gleichzeitig scheint das Präparat zu kleinen Inseln zusammenzufließen, wodurch dann die tatsächlich benetzte Fläche kleiner wird und der Wert des Testes keine erhebliche Verschiebung erleidet.

Die Beobachtung der Fliegen, die während des Testes stets durch Wärme und ausreichende Beleuchtung munter gehalten wurden, wurde meistens auf 24 Stunden beschränkt. In dieser Zeit ließen sich noch E 605 f-Konzentrationen in Wasser, Pflanzensaft oder Gewebstreibe von 0,0001 % mit Sicherheit nachweisen. Das entspricht einem Gamma E 605 f pro Gramm Testsubstanz. E 605 f-Verdünnungen von 10⁻⁷ bewirkten bei Fliegen keine Vergiftungserscheinungen mehr. Wenn nach 24 Stunden nicht schon ein hoher Prozentsatz der Fliegen lauf- und flugunfähig geworden war, hatte es keinen Sinn, den Test länger auszudehnen. Waren nach diesem Zeitpunkt noch alle Fliegen gesund, so kam es auf der vorliegenden Probe auch nach fünf Tagen nicht mehr zu einer Giftwirkung. Unterschwellige E 605 f-Konzentrationen führen also auch bei Fliegen nicht zu einem Kumulationseffekt.

C. Quantitative Bestimmung des Präparatgehaltes von Testproben aus der Abtötungszeit

Nachdem die Tabellen fertiggestellt waren, fiel es auf, daß sich die Zeiten der 100%igen Lauf- und Flugunfähigkeit der Testfliegen T_{100%} (in den Tabellen 1 u. 2 M_{100%}) mit verblüffender Annäherung verdoppeln, wenn sich die dazugehörigen

E 605 f-Konzentrationen um das Zehnfache verringern. Diese Beziehung läßt sich mit folgenden beiden Formeln ausdrücken:

Darin bedeutet:

- (1) $T_{100\%} = 21 \cdot 2^a$ $T_{100\%}$ = die Zeit bis zur 100%igen Lauf- und Flugunfähigkeit der Testfliegen
- (2) $C_{\%} = \frac{1}{10^a}$ $C_{\%}$ = die E 605 f-Konzentration in Prozenten
 a = eine abhängige Veränderliche.

Die Formel (1) läßt sich wie folgt umformen:

$$\log T = \log 21 + a \cdot \log 2 \quad \text{oder}$$

$$(4) \quad a = \frac{\log T - \log 21}{\log 2}$$

Entsprechend ergibt sich aus (2): $10^a \cdot C = 1$

$$a \cdot \log 10 + \log C = \log 1 \quad \text{oder}$$

$$(5) \quad a = \frac{\log 1 - \log C}{\log 10}$$

Setzt man die Werte für a aus den Formeln (4) und (5) gleich, dann ergibt sich:

$$\frac{\log 1 - \log C}{\log 10} = \frac{\log T - \log 21}{\log 2} \quad \text{oder}$$

$$\log C = - \frac{(\log T - \log 21) \cdot \log 10}{\log 2} + \log 1$$

Daraus ergibt sich nach Einsetzen der Konstanten:

$$\log C = - \frac{(\log T - 1,32222) \cdot 1}{0,30103} + 0 \quad \text{oder}$$

$$(6) \quad \log C_{\%} = \frac{\log T_{100\%} - 1,32222}{0,30103}$$

$$(7) \quad \log T_{100\%} = 1,32222 - \log C_{\%} \cdot 0,30103$$

Diese mathematische Beziehung gilt im untersuchten Bereich offenbar nur für E 605 f-Verdünnungen bis 0,001 %. Die durch 0,0001%ige Brühe bedingte Abtötungszeit gehorcht dieser Beziehung nicht mehr. Nun interessierte das Verhalten der Abtötungszeiten innerhalb dieser beiden Grenzen. Sie wurden mit je 50 Testen für die Konzentrationen 0,0008, 0,0005, 0,0002 % bestimmt. Die Werte sind zur Ergänzung der Tabelle 1 in Tabelle 1b zusammengefaßt.

Errechnet man für diese Konzentrationen nach Formel (7) die Abtötungszeit $T_{100\%}$ und vergleicht sie mit den entsprechenden Werten M aus Tabelle 1b, so findet man bei $C = 0,0008$ % mit $T = 180$ und $M = 180$ noch eine völlige Übereinstimmung des errechneten und des durch Tests ermittelten Wertes. Für

Tabelle 1b

E 605 f- Konzentrationen	Anzahl der Einzelteste	3. Beobachtung 100 % Fliegen †		
		Mittelwert	Durchschnittl. Fehler	Extremfehler
C %	n	M	η	E
0,0008 %	50	180 [*]	$\pm 45 = 25,0 \%$	+ 145 ₁ - 80 ₁
0,0005 %	50	245 [*]	$\pm 54 = 22,0 \%$	+ 165 ₁ - 90 ₁
0,0002 %	50	480 [*]	$\pm 137 = 28,6 \%$	+ 450 ₁ - 200 ₁

stärkere E 605 f-Verdünnungen sind die wirklichen Abtötungszeiten größer als diejenigen, die mit Hilfe der Formel errechnet werden können. Demnach gilt die Formel mit großer Genauigkeit nur für 1 bis 0,0008%ige E 605 f-Brühen.

In Formel (1) kommt in den Faktor 21 höchstwahrscheinlich das Mischungsverhältnis von E 605 und dem Emulgator zum Ausdruck, während 2^a von der Verdünnung des Präparates mit Wasser bestimmt wird. Da alle Abtötungszeiten für die Konzentrationen von 1 bis 0,0008 % mit einer Formel erfaßt werden können, muß angenommen werden, daß hier völlig gleichartige Vorgänge zur Vergiftung der Fliegen führen. Erst bei stärkeren Verdünnungen werden neue Verhältnisse offenbar. In einem späteren Kapitel soll für diese Erscheinung ein Deutungsversuch unternommen werden.

Die Abhängigkeit der Abtötungszeiten von der E 605 f-Konzentration ist in Abb. 19 in einem Koordinatensystem mit logarithmischer Einteilung beider Achsen graphisch dargestellt. Die nach Formel (7) errechneten Abtötungszeiten für die Konzentrationen von 1 bis 0,0008 % ergeben in guter Übereinstimmung mit den empirischen Werten eine Gerade. Mit den durch Teste ermittelten Werten wird sie für größere Präparatverdünnungen als Kurve mit stärker zunehmenden Abtötungszeiten fortgesetzt. Alle empirischen Werte sind durch kleine Kreise angegeben. Der Bereich des „durchschnittlichen Fehlers“ ist nach den Tabellen 1 und 1b mit gestrichelten Linien abgegrenzt. Der E 605 f-Gehalt einer Probe läßt sich nun auf einfache Weise ermitteln. Durch Einsetzen der gefundenen Abtötungszeit $T_{100\%}$ in die Formel (6) ergibt sich die E 605-Konzentration der geprüften Probe. Eine erheblich größere Genauigkeit wird natürlich erreicht, wenn mit der gleichen Probe mehrere Wiederholungsteste durchgeführt werden und für $T_{100\%}$ der Mittelwert der Zeiten bis zur 100%igen Lauf- und Flugunfähigkeit der Fliegen eingesetzt wird. Die Formel (7) ermöglicht innerhalb ihres Geltungsbereiches die Vorausberechnung der Abtötungszeit für eine beliebige E 605 f-Konzentration.

Durch Anwendung der graphischen Darstellung (Abb. 19) wird auch die Rechnung überflüssig. Sucht man auf der Abszisse die ermittelte Zeit $T_{100\%}$ in Minuten

Die Abtötungszeit $T_{100\%}$ als Funktion der E 605 f-Konzentration $C_{\%}$

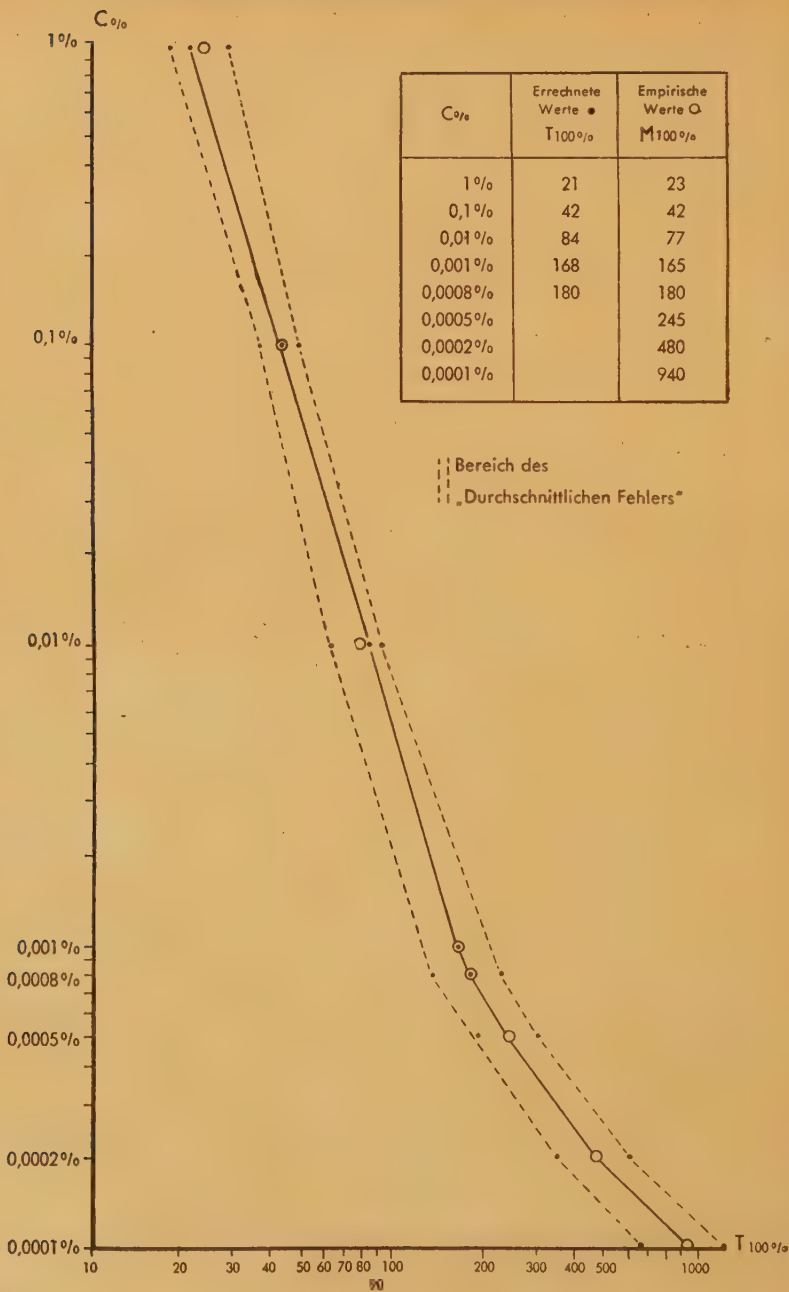


Abb. 19

uf, so ergibt sich aus dem dazugehörigen Kurvenpunkt die entsprechende E 605 f-Konzentration, die auf der Ordinate abgelesen wird. Der Streubereich ist nach der Zahl der Wiederholungsteste mehr oder weniger zu berücksichtigen.

Die Formeln und die Kurve gelten zunächst nur für Tests, die unter Bedingungen durchgeführt wurden, wie sie für diese Arbeit vorlagen. Wie weit sie sich verallgemeinern lassen, oder auch sonst in dieser oder einer modifizierten Form anwendbar sind, muß einer weiteren Prüfung vorbehalten bleiben. Eine derartige Erfassung der Ergebnisse aus Versuchen mit verschiedenen Insekten und Insektiziden unter besonderer Beachtung grundsätzlicher Änderungen im Kurvenverlauf läßt wichtige Hinweise auf den Wirkungsmechanismus der Präparate im Insektenkörper erwarten. Diese Untersuchungen sind in Verbindung mit solchen über das Verhalten des Präparates im tierischen Organismus als Gegenstand einer späteren Arbeit vorgesehen.

III.

Die Guttationstropfenmethode

(Frohberger, L. V. 5)

Mehrere Kernfragen, auf die später ausführlich eingegangen wird, konnten mit der Guttationstropfenmethode erfolgreich bearbeitet werden.

Bei Pinselung junger Hafersprosse mit 1%iger E 605 f-Brühe war im Herbst 1947 aufgefallen, daß die sonst farblose Guttationsflüssigkeit am nächsten Tage mit klar teigelber Färbung auftrat. Da die Blätter stark geschädigt waren und sich eine bräunliche Verfärbung einleitete, konnte die Ursache dieser Erscheinung sowohl im Abbau des Chlorophylls als auch in der Eigenfärbung des E 605 vermutet werden, das in neutralen bis alkalischen Medien diesen Farbton zeigen kann. Die gesammelte Guttationsflüssigkeit erwies sich im Fliegentest als insektizid wirksam. Jedoch enthielt sie nur so wenig E 605, daß damit die gelbe Farbe der Guttationstropfen nicht erklärt werden kann. Sie muß wohl auf Abbauprodukte des Chlorophylls zurückgeführt werden. Wenn es auch bei dieser Versuchsanordnung nicht ganz ausgeschlossen war, daß das Präparat von außen direkt in die Guttationstropfen gelangt sein konnte, so regte diese Erscheinung doch weitere Versuche an, bei denen die genannte Fehlerquelle ausgeschaltet wurde.

1. Versuche und Ergebnisse

1. Versuchsreihe:

Um die Guttation möglichst maximal zu gestalten, wurde in einem Warmhaus ein kleines Gewächshaus von 150×100×100 cm aufgestellt, in dem die relative Luftfeuchtigkeit auf ca. 95 % gehalten werden konnte. In diesem wurden in geeigneten Gefäßen mit Komposterde *Avena sativa*, *Zea mays* (Abb. 20), *Alchemilla vulgaris* L. (Wiesenfrauenmantel) und *Tropaeolum majus* L. (Kapuzinerkresse) gezogen, die eine kräftige Guttation zeigten.

Die Blätter der jungen Gramineen von 5—10 cm Höhe wurden bis zum oberen Drittel ober- und unterseits mit E 605 f-Brühen von 0,1 und 0,01 % gepinselt. Ebenso wurden die Blattspreiten unter Freilassung eines 8—10 mm breiten Randes von *Alchemilla vulgaris* und *Tropaeolum majus* behandelt. Durch vorsichtige Pinselführung konnte vermieden werden, daß Prä-

paratspritzer in den Hydatodenbereich der Blattspitzen gelangten. In den früheren Morgenstunden des nächsten Tages wurde die Guttationsflüssigkeit nach Pflanzenarten und angewandten E 605 f-Konzentrationen getrennt, mittels Gummihaubenpipetten gesammelt und anschließend zu je 1 cm³ mit Fliegen getestet. Dabei ergab sich, obwohl diesmal die Pflanzen ungeschädigt und die Guttationstropfen farblos blieben, in allen Fällen eine deutliche insektizide Wirksamkeit der Guttationsflüssigkeit. Auf den Ausscheidungen unbehandelter Pflanzen blieben die Fliegen gesund. Durch Vergleichsteste mit E 605 f-Brühen bekannter Konzentrationen konnte festgestellt werden, daß die Guttationsflüssigkeit der Präparat in einem Mengenverhältnis von 0,001 bis 0,0001 % enthielt. Die verschiedenen Größen der Anwendungskonzentrationen spiegelten sich jedoch nur sehr undeutlich in der insektiziden Wirksamkeit der Guttationsflüssigkeit wieder. Wiederholte Versuche ergaben das gleiche Bild.

12. Versuchsreihe:

Nun erhob sich die Frage, ob das Präparat ebenfalls in der Guttationsflüssigkeit auftritt, wenn es der Wurzel zur Aufnahme geboten wird. Dabei mußte vermieden werden, daß Bodenkolloide das Präparat absorbierten. So wurden Mais und Hafer in Sandkulturen angezogen und mit Knopscher Nährsalzlösung gegossen. Das Präparat wurde in den Konzentrationen 0,01, 0,1 und 1 % mit 120 cm³ dem Sand in den 1200 cm³ fassenden Holzkästen zugesetzt, so, daß diese mit Flüssigkeit vollständig gesättigt war. Am nächsten Tag hatte die 1%ige Brühe die Guttation vollständig unterbunden und E 605 f 0,1 % hatte sie deutlich beeinträchtigt, während der Hafer mit 0,01%igem E 605 f-Zusatz normal guttierte. Auch hier ließ sich im Fliegentest ein deutlicher E 605-Gehalt der Guttationsflüssigkeit nachweisen, der in der gleichen Größenordnung lag wie nach Behandlung der Blattspreiten. Dreifache Wiederholungen der Versuchsreihe bestätigten das Ergebnis. Bei der überaus stark guttierenden *Araceae Colocasia nymphaeifolia* wäre die Ausbeute an Guttationsflüssigkeit erheblich besser gewesen, doch war ein solches Exemplar nicht zu beschaffen.

Bei derartigen Versuchen hat sich auch als zweckmäßig erwiesen, vorgekeimte Karyopsen von Gramineen in Bohrlöcher von Kunststoffplatten einzuklemmen und die Platten so über flache Schalen mit präparathaltiger Nährsalzlösung zu legen, daß die Wurzeln in die Flüssigkeit eintauchen. Hierdurch kann eine Dampfwirkung des Präparates auf Sproßparasiten ausgeschaltet und jederzeit die Präparatzufuhr durch die Wurzeln durch Abheben der Platten abgebrochen werden. Ferner läßt sich auf diese Weise die Präparataufnahme auch quantitativ erfassen (Abb. 21).

2. Auswertung der Ergebnisse

Wenn das Präparat erst in den Holzteil der Gefäße gelangt ist, ist es nicht weiter verwunderlich, wenn es auch nachher in der Guttationsflüssigkeit auftritt. Es wird von dem Transpirationsstrom mitgerissen und kann durch die Hydatoden zur Ausscheidung gelangen. Nach Frey-Wyssling (L. V. 4) sind die passiven Hydatoden oder Wasserspalten, die bei guttierenden Kräutern die Regel bilden, Spaltöffnungen vergleichbar, die ihre Beweglichkeit teilweise verloren haben und deren „Atemhöhle“ direkt an Tracheiden grenzt. Tritt in den Wasserleitungsbahnen ein Überdruck auf (Wurzeldruck), filtrierte Wasser in diese Höhle und entweicht durch die offene Spalte. Wenn die Transpiration, wie z. B. in der Nacht oder sonst bei wassergesättigter Luft, ausbleibt, wird der Wasserstrom nicht aufgehoben, sondern die Wurzeln befördern gewissermaßen unbekümmert um di-

Abb. 20:
Zea mays in Kompost-
erde mit Guttations-
tropfen.

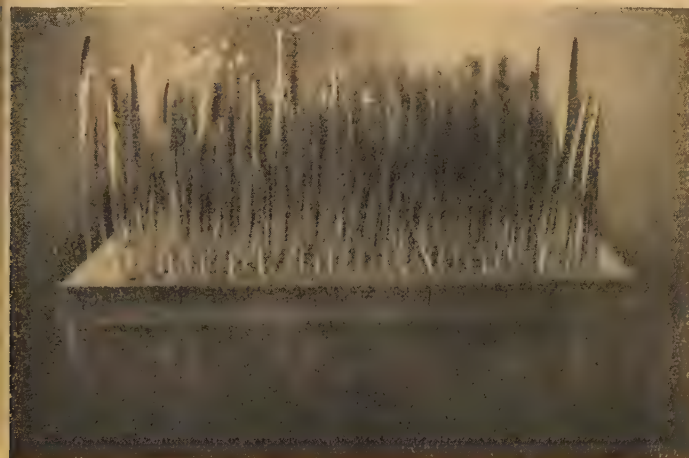


Abb. 21:
Avena sativa mit
Guttationstropfen in
einer Kunststoffplatte
auf einer Glasschale
mit Nährsalzlösung.

Bedürfnisse der Blätter weiter Wasser in die Triebe hinauf, das dann in flüssiger Form ausgeschieden wird. Es findet hier zwar eine gewisse Elektion bei der Stoffausscheidung statt, die in einer vorzugsweisen Zurückhaltung gewisser Stoffe besteht, jedoch kann die Pflanze nicht verhindern, daß sogar wertvolle Nährstoffe in geringen Mengen mit anderen überschüssigen Ionen die Pflanze wieder verlassen. *Frey-Wyssling* schließt daraus, daß die Guttation von der Pflanze in den Dienst der Rekretion gestellt wird.

In einer mittlerweile von *Hofferbert* und *Orth* veröffentlichten Arbeit (L. V. 9) wird das Auftreten von E 605 in der Guttationsflüssigkeit nach Wurzelbehandlung mit Versuchen an Kartoffelpflanzen bestätigt. Jedoch soll hier auch eine starke Guttation an einzelnen in Wasser stehenden Blättern beobachtet worden sein. Uns ist es nicht gelungen, abgeschnittene Kartoffelsprosse unter optimalen Bedingungen zum Guttieren zu bringen (vergl. *Frey-Wyssling*, L. V. 4).

Es ist also anzunehmen, daß mit der Guttationstropfenmethode die Aufnahme und der Transport mit dem anorganischen Saftstrom durch die Pflanze von allen Stoffen nachweisbar ist, die entweder nur wasserlöslich oder sowohl wasser- wie lipoidlöslich sind, wobei der flüssige Aggregatzustand bei schwer wasserlöslichen Stoffen von Vorteil ist. Freilich muß der Stoff selbst mikrochemisch, physikalisch oder biologisch in starker Verdünnung nachweisbar sein, wie es u. a. besonders für die modernen Insektizide, Pflanzenwuchsstoffe oder Moleküle mit radioaktiven Bausteinen zutrifft. Nicht nachweisbar sind in der Guttationsflüssigkeit naturgemäß praktisch wasserunlösliche Stoffe und solche, für die auf Grund ihrer Molekülgröße die Zellulosemembranen unpassierbar sind, ferner auch solche Stoffe, die in der Pflanze in kurzer Zeit restlos festgelegt oder abgebaut werden.

IV.

Zur Frage der E 605-Aufnahme durch die Wurzel

Mit der Guttationstropfenmethode konnte eindeutig nachgewiesen werden, daß das Präparat von der Wurzel aufgenommen wird. Ein weiterer andersartiger Versuch lieferte dafür eine erneute Bestätigung.

1. Versuche und Ergebnisse

13. Versuchsreihe:

Methode: In runde Emailleschalen von 7 cm Höhe und 2500 cm³ Fassungsvermögen wurde Hafer und Mais in Sand eingesät und mit Knopscher Nährlösung gegossen. Nachdem die Pflanzen 6—8 cm hoch geworden waren, wurden den Schalen je 250 cm³ 0,1%ige E 605 f-Brühe zugesetzt, und zwar mit einem Schütteltrichter, dessen Spitze in den Sand eingedrückt wurde. Dadurch konnte verhindert werden, daß Präparatspritzer an die Sprosse gelangten. In entsprechender Weise wurde auch später die Nährlösung zugesetzt. Nach drei Wochen wurden die Sprosse 3 cm über dem Boden abgeschnitten und im Mörtel zu einem feinen Brei zerrieben, der anschließend mit 10 cm³ Äther extrahiert wurde. Der Ätherextrakt trocknete über Nacht in offenen Petrischalen ein und wurde am anderen Morgen mit Fliegen besetzt.

Ergebnis: Während die Fliegen auf der Ätherkontrolle während 24 Stunden gesund blieben, starben sie auf dem Extrakt von 60 g Hafer nach 210 Minuten zu 100 %, und auf dem Extrakt von 80 g Mais innerhalb von 24 Stunden zu 80 % ab. Der Sandboden war nach den verstrichenen drei Wochen der zugesetzten Präparatkonzentration entsprechend noch nahezu voll wirksam.

2. Auswertung der Ergebnisse

Aus diesem, als auch aus dem Ergebnis der 12. Versuchsreihe geht hervor, daß das Präparat von der Wurzel aufgenommen wird, doch sind die nachgewiesenen Mengen sehr klein. (Das Präparat zeigt mit Wasser oder Äther keine gesteigerte Flüchtigkeit. Versuche, die speziell zur Klärung dieser Frage angestellt wurden, ergaben, daß es möglich ist, durch Eintrocknen der Lösungsmittel, Wasser, Äther und Methylenchlorid bei Zimmertemperatur das Präparat ohne nachweisbaren Substanzverlust anzureichern.) Da aus späteren Versuchen hervorgeht, daß nach Entfernen der Wurzeln und Einstellen der Sprosse in E 605 f-Brühe erheblich größere Präparatmengen in die Pflanze gelangen, kann nicht angenommen werden, daß die Wurzel das Präparat etwa wie Nährionen aktiv aufnimmt. Sie scheint vielmehr nicht verhindern zu können, daß sie von kleinen

Mengen durchdrungen wird. Da *Strugger* zahlreiche Beweise dafür erbringen konnte, daß sich das Wasser auch in den submikroskopischen Räumen der Zellwände rasch ausbreiten kann (*Greßner*, L. V. 7), steht auch dem E 605 dieser Weg in jedem Falle offen. Es ist in diesem Zusammenhang bemerksenswert, daß eine gesättigte wässrige Lösung von E 605 in destilliertem Wasser mit einem spezifischen Widerstand von 200 000 Ohm*) den elektrischen Strom praktisch nicht leitet und sich bei einer Spannung von 10 Volt innerhalb von drei Tagen an keiner der beiden Elektroden anreichert. Demnach dürfte das Präparat in wässriger Lösung keine Ladungsträger abspalten und undissoziiert vorliegen. Auch findet keine nachweisbare elektrolytische Zersetzung statt (Abb. 22). Da die Guttation

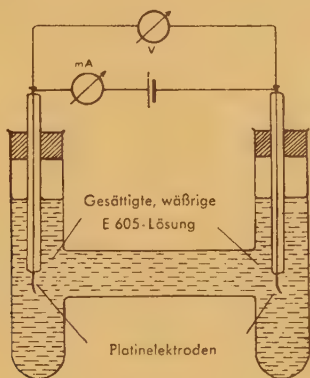


Abb. 22:
Versuchsanordnung zur Prüfung des Verhaltens von wässrigen E 605-Lösungen gegenüber dem elektrischen Strom.

bei passiven Hydatoden ihre energetische Ursache im Wurzelndruck hat, läßt die Beeinträchtigung dieses Vorganges durch höhere E 605 f-Konzentrationen auf eine Schädigung der physiologischen Prozesse in der Wurzel schließen (vergl. Versuchsreihe 12). Doch bleibt zunächst die Intensität der Guttation (also wohl auch die Wurzel) ungeschädigt, wenn der Hafersproß durch Bepinseln mit 1%iger E 605 f-Brühe zum Absterben gebracht wird. Letzteres mag als vorläufiger Hinweis dafür gelten, daß das Präparat zumindest nicht in starkem Maße innerhalb von 15 Stunden vom Sproß in die Wurzel abgeleitet wird (vergl. Versuchsreihe 11).

Wenn auch das Präparat von der Wurzel aufgenommen wird und in den anorganischen Saftstrom gelangt, kann trotzdem nicht erwartet werden, daß auf diese Weise Pflanzen von tierischen Schädlingen befreit werden können. Dazu ist die im Sproß nachweisbare Menge zu gering und die empfindlichen Blattläuse entnehmen ihre Nahrung dem organischen Saftstrom (*Büsgen*, L. V. 2; *Gäumann*, L. V. 6; *Huber*, L. V. 10; *Stellwaag*, L. V. 24), der sich bezüglich seines Präparatgehaltes grundsätzlich vom anorganischen Saftstrom unterscheidet. Versuche zu dieser Frage ergaben, daß Blattläuse an *Avena sativa* und *Vicia faba*, die in Sand kultiviert und mit 0,01%iger E 605 f-Brühe gegossen wurden, nur selten und dann auch nur zu einem Teil getötet wurden.

*) Für die Widerstandsmessung danke ich Herrn Dr. Noack, Höfchen

Zur Frage des Eindringens des Präparates in Sproßorgane

Es ist eine unbestrittene Tatsache, daß der E 605-Spritzbelag auf der Pflanze im allgemeinen schon innerhalb weniger Tage ganz erheblich von seiner insektiziden Wirksamkeit einbüßt, um schließlich praktisch völlig unwirksam zu werden. Mit einem Substanzverlust durch Verdampfen läßt sich diese Erscheinung nicht erklären. Dazu ist der Dampfdruck des Präparats zu gering und eine gesteigerte Flüchtigkeit mit Wasserdampf ließ sich ja auch nicht nachweisen. Ferner bleibt die Wirksamkeit auf Holz, Borke (*Wellenstein*, L. V. 28), Textilien und Glas wochenlang und monatelang erhalten. Auch kann nicht als Erklärung dienen, daß Alkaliausscheidungen das Präparat verseifen, da es, wie später nachgewiesen wird, recht alkalibeständig ist. Diese Überlegungen sprechen für ein Eindringen des Präparates in das Pflanzengewebe.

A. Eindringen in das Blatt

Es wurde bereits von vielen Versuchsanstellern bestätigt, daß E 605 bei oberflächlicher Anwendung in Blättern minierende Schädlinge tötet und *Untersthöfer* konnte nachweisen, wie in der Einleitung schon erwähnt wurde, daß auf der Unterseite von Blättern saugende Blattläuse eingehen, wenn die Oberseite mit E 605 behandelt wird. Damit ist die „Tiefenwirkung“ des Präparates auf pflanzlichem Gewebe erwiesen. Jedoch geht daraus nicht klar hervor, ob es dabei in Dampfform auf die Parasiten als Atemgift wirkt oder ob es in gelöstem Zustand in das Blattgewebe eindringt. Erst mit Hilfe der Guttationstropfenmethode konnte entschieden werden, daß das Präparat von der Oberfläche der Blätter bis in die Leitbündel eindringt (vergl. Versuchsreihe 11).

Die Durchlässigkeit der fettartigen Epidermisüberzüge für E 605 ist nicht weiter verwunderlich, wenn man sich folgendes vergegenwärtigt. Mit der kutikulären Transpiration ist die Durchlässigkeit der Kutikularschichten für Wasser allgemein bekannt. Ferner weiß man seit *Mariotte* (1717) (L. V. 15) und *Hales* (1748), daß Blätter mit ihrer ganzen Oberfläche Wasser aufnehmen können, wofür in den folgenden beiden Jahrhunderten zahlreiche weitere Beweise geliefert wurden. Zwar kommt *Wegel* (L. V. 29) zu dem Ergebnis, daß die Wasseraufnahme mengenmäßig relativ klein und für die untersuchten Pflanzen gemäßiger Klimate biologisch ohne Bedeutung ist. Doch sagt er weiter, daß die Kutikula, selbst wenn sie recht kräftig entwickelt war, wie bei vielen untersuchten Xerophyten, für die Wasseraufnahme kein unüberwindliches Hindernis bot. Er kommt weiter zu dem Schluß, daß die oberirdische Wasseraufnahmefähigkeit gewelkter Blätter eine weit verbreitete Erscheinung ist. Aus den Arbeiten von *Burgenstein* (L. V. 3) und *Rudolph* (1925) ist zu entnehmen, daß die Wasserdurchlässigkeit der Kutikula von ihrem Quellungsgraduell beeinflußt wird. Zwar ist das E 605-Molekül erheblich größer als dasjenige des Wassers, jedoch zeigt *Hallier* (L. V. 8), daß auch Moleküle dieser Größenordnung in das Blatt einzudringen vermögen. Er stellt fest, daß roter Kirschsafte von Sauerkirschen und Indigo-Schwefelsäure in alle Haare und Drüsenhaare von *Pelargonium* und durch deren Vermittlung in die Oberhautzellen der Ober- und Unterseite der Blätter eindringt, ferner, daß der Farbstoff auf der Rückseite der Blätter längs der Nerven durch das chlorophyllfreie Gewebe, das die Nerven von unten her halbmondförmig umschließt, weiter in das Innere vordringt und von allen Elementen der Gefäßbündel sehr energisch aufgesogen wird. Bei allen genannten Geweben trat der Farbstoff in das Zellumen

ein. Da *Hallicr* seine Ergebnisse auch bei Versuchen an anderen Pflanzen bestätigt fand, dürfen sie wohl mit Recht verallgemeinert werden. Ebenso geben *Stadtler* (L. V. 23) und *Radtke* (L. V. 16) an, daß Nektarien durch die Kutikula Lösungen sezernieren, die die großen Rohrzuckermoleküle enthalten. Wenn man nun noch daran denkt, daß die ausgesprochene Lipoidlöslichkeit des Präparates das Durchdringen der lipophilen Epidermisüberzüge noch weiterhin erleichtert und seine noch deutliche Wasserlöslichkeit ein Passieren der wässrigen Medien erlaubt, wird es ohne weiteres verständlich, daß E 605 in das Blatt eindringen kann. Weitere Versuchsergebnisse und Literaturhinweise für die Permeabilität der Kutikula gibt *Arens* an (L. V. 1).

B. Eindringen in Früchte und Knollen

Nachdem sich die oberflächlichen Blattschichten für E 605 als durchlässig erwiesen haben, liegt es nahe, das gleiche für Fruchtschalen anzunehmen. Doch dürfte hier die größere Dicke der Kutikula und der fettähnlichen Überzüge modifizierend auf die Permeabilitätsverhältnisse einwirken. Außerdem erscheint als Widerspruch, den es aufzuklären gilt, daß das Präparat auf der Fruchtschale, z. B. der des Apfels, innerhalb weniger Stunden den wesentlichsten Teil seiner Wirksamkeit verliert, während *Sy* (L. V. 26) und mit ihm viele andere Versuchsansteller eine ausgezeichnete Wirkung des Präparates gegen die Larve des Apfelwicklers (*Cydia pomonella* L.) feststellen konnten. Um das Verhalten des Präparates nach Auftragen auf die Schale verschiedener Früchte zu prüfen, wurden zahlreiche Versuche angestellt, über die im folgenden berichtet werden soll. Diese Untersuchungen boten im Vergleich zu denjenigen an Blättern den wesentlichen Vorteil, daß hier das subepidermale Gewebe einer direkten Prüfung auf seinen etwaigen Präparatgehalt zugänglich war.

1. Methodisches

Das Präparat wurde in wässrigen Verdünnungen von E 605 f in der Weise auf die Früchte gebracht, daß sie entweder mit der Brühe mittels einer Zerstäuberspritze maximal gespritzt oder eine Sekunde (Kurzbehandlung) bzw. mehrere Tage (Langbehandlung) in dieser Brühe untergetaucht blieben. Die Kurzbehandlungen durch Spritzen oder kurzes Eintauchen erwiesen sich im Effekt als gleichwertig. Stets blieben mehr als 50 % der Oberfläche gut benetzt, und der Belag trocknete, ohne weitere Verluste durch Herablaufen, an. Die insektizide Wirksamkeit der Oberflächen der behandelten Früchte wurde nach Antrocknen des Belages bei Zimmertemperatur in der Weise durchgeführt, daß die ganzen Früchte mit 10 bis 20 Stubenfliegen unter die Testgläser gebracht wurden. Extraktionen möglichst dünn abgehobener Fruchtschalen wurden hergestellt, indem die zerkleinerten Schalen 15 Minuten lang mit Diäthyläther geschüttelt wurden. Der Ätherextrakt wurde anschließend in offenen Petrischalen bei Zimmertemperatur getrocknet und schließlich in der üblichen Weise mit Stubenfliegen getestet. Der trockene Extrakt unbehandelter Früchte war für Fliegen stets unschädlich. — Um das Auftreten von Peroxyden im Äther zu vermeiden, wurde er über einer wässrigen Ferrosulfatlösung verschlossen aufbewahrt und mit dieser von Zeit zu Zeit geschüttelt. — Wenn dicht unter der Schale abgeschabtes Fruchtfleisch auf seinen Präparatgehalt geprüft werden sollte, um die Durchlässigkeit der Schale beurteilen zu können, mußte natürlich sorgfältig vermieden werden, daß bei der Schnittführung Präparatspuren von der Schale auf das Fruchtfleisch übertragen wurden. Dabei wurde sinngemäß verfahren, wie es in Abschnitt V/B 2 bb, S. 49, geschildert wird.

2. Versuche und Ergebnisse

Die nachstehenden Versuche wurden mit reifen und unreifen Äpfeln verschiedener Sorten, mit Weinbeeren, Zitronen, Apfelsinen, Tomaten und Kartoffelknollen durchgeführt.

a) Versuche an reifen Lageräpfeln

aa) Die Wirkintensität behandelter Apfeloberflächen im zeitlichen Verlauf

Zunächst soll versucht werden, den Wirksamkeitsgrad behandelter Apfeloberflächen zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Behandlung quantitativ zu erfassen. Da sich der Fliegentest bei diesen Versuchen über einige Stunden erstreckt, kann die Wirksamkeit der Apfeloberfläche kurz nach der Behandlung nur innerhalb eines Zeitraumes von Stunden, aber nicht zeitpunktmäßig ermittelt werden.

Zeichenerklärung

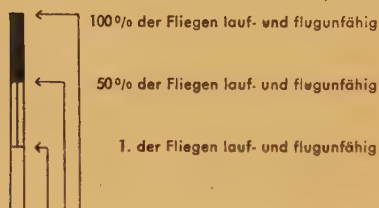
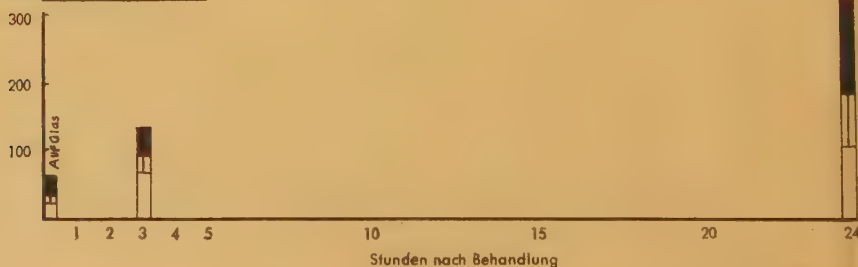


Abb. 23

Schalenextrakt



Apfeloberfläche



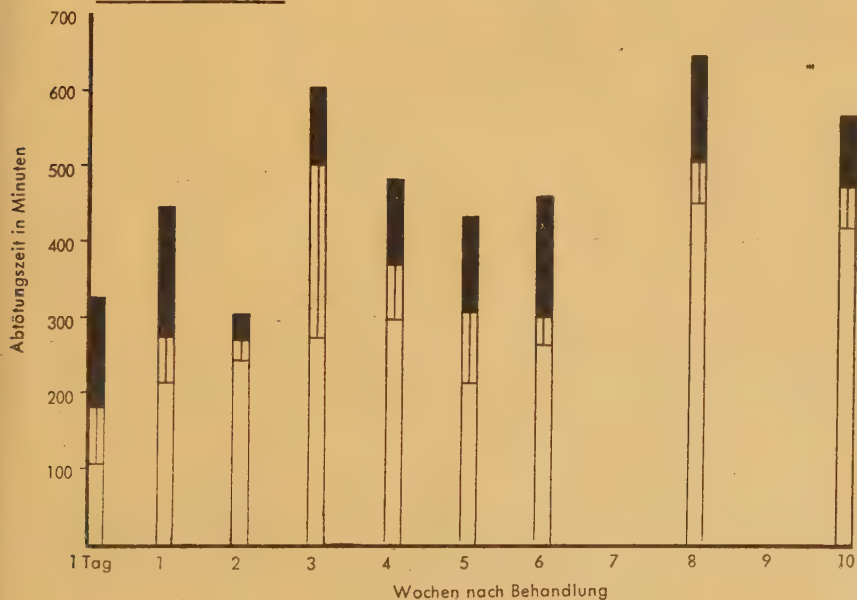
14. Versuchsreihe:

Reife Lageräpfel der Sorten Schöner aus Boskoop, Zuccalmaglios Renette, Jonathan, Ontario und Champagner Renette wurden einmalig mit 0,02%iger E 605 f-Brühe gespritzt und nebeneinanderliegend bei Zimmertemperatur getrocknet. Die glattschaligen Vertreter blieben nach der Spritzung zu ca. 50 % ihrer Oberfläche und der rauhschalige Boskoop völlig benetzt. Wo die Benetzung schlecht war, lief jedoch der Belag zu kleinen Tröpfchen und Inseln zusammen, so daß trotzdem die Menge des Belages sich auf allen Äpfeln nicht sehr unterschied. Dann wurden sie in einem kühlen Kellerraum bei 10–12° C aufbewahrt und nur jeweils in einzelnen Exemplaren zur Prüfung ins Laboratorium geholt. Die Wirksamkeit der Schalenoberfläche wurde in der üblichen Weise im Fliegen-test ermittelt, und zwar zunächst gleich nach Antrocknen des Spritzbelages (nach 3 Stunden), dann nach 24 Stunden und weiter allwöchentlich sechs Wochen lang. Die Sorte Ontario wurde zehn Wochen lang geprüft. Gleichzeitig wurde die Schale je eines behandelten Apfels jeder Sorte mit 20 cm³ Äther extrahiert und nach Verdunsten des Äthers mit Fliegen besetzt. Auf den unbehandelten Äpfeln und deren Ätherextrakt blieben die Fliegen während der 24stündigen Testdauer fast immer sämtlich gesund. Nur hin und wieder starben 1–2 Kontrollfliegen. Trotz der verschiedenen Schalenrauigkeit der einzelnen Sorten war das Verhalten in diesem Dauerversuch übereinstimmend. So mag es genügen, die Werte für die 10 Wochen lang geprüfte Sorte Ontario als Beispiel für alle in den Blockdiagrammen (Abb. 23, 24) anzugeben.

Wenn man von der unvermeidlichen Streuung der Werte absieht, die ihren Hauptgrund darin hat, daß bei jedem Test andere Exemplare benutzt wurden, ist deutlich zu erkennen, daß innerhalb der ersten 24 Stunden die Wirksamkeit des Präparates auf der Apfelschale stark nachläßt (Abb. 23), um aber dann in den

Apfeloberfläche

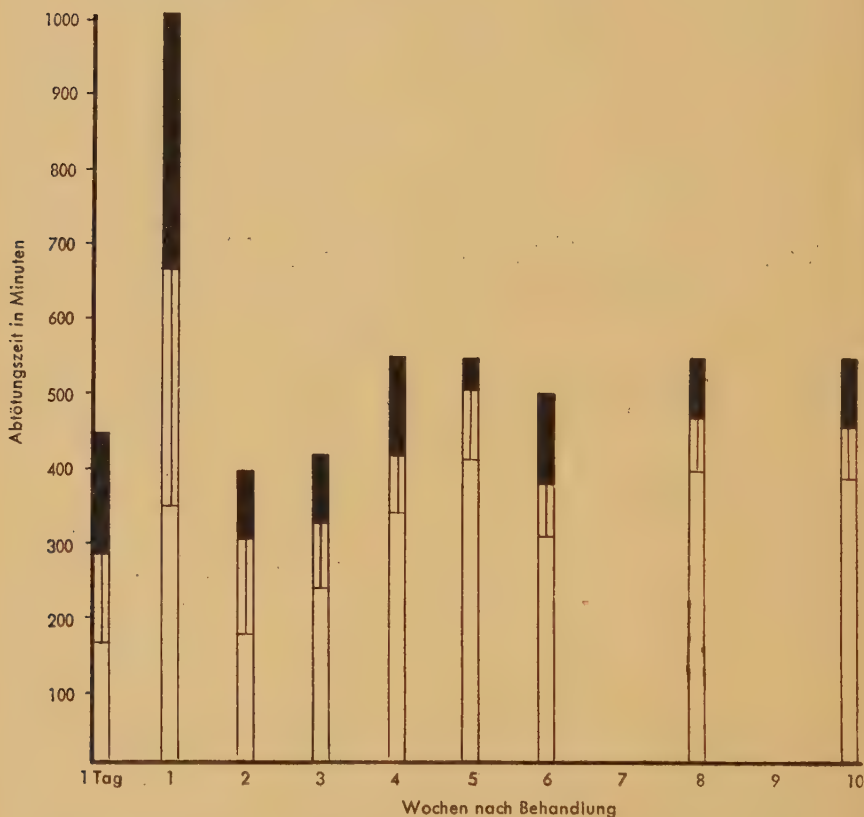
Abb. 24



folgenden Wochen nahezu konstant zu bleiben (Abb. 24)*). In Abb. 23 gibt der Block dicht an der Ordinate die Wirksamkeit der auf den einzelnen Äpfeln verbliebenen Menge (400 mg) der Spritzbrühe zum Vergleich auf Glas an. Die Toxizität der Schalenextrakte ist ganz entsprechend (Abb. 23 und 25). Nur gleich nach der Behandlung ist die Apfeloberfläche wirksamer als der zu gleicher Zeit hergestellte Extrakt (Abb. 23, 24 und 25). Äpfel, die vor der Behandlung abgetötet waren

Schalenextrakt

Abb. 25



und deren Fruchtfleisch wenig später durch und durch faulte, zeigten die gleichen Wirksamkeitsverhältnisse ihrer Schale wie die lebenden Äpfel. Die Abtötung geschah im Eisschrank bei -5°C , um die Schalenlipide möglichst unbeeinflusst zu lassen.

*) Nach Fertigstellung der Arbeit wurde uns eine Veröffentlichung der American Cyanamid-Company (Technical Bulletin 2/1948) zugänglich, in der angegeben wird, daß ein Parathion-Präparat, das die gleiche chemische Zusammensetzung wie E 605 haben soll, mit der Zeit in der Apfelschale merklich an Menge abnimmt und nach wenigen Wochen völlig aus ihr verschwindet. — Die Ursachen der Diskrepanz zwischen dieser Angabe und unseren Ergebnissen werden noch geprüft.

Diese Ergebnisse lassen sich mit folgenden Überlegungen zwanglos deuten:

Die Brühe trocknet auf der Apfeloberfläche an, wobei gleichzeitig das lipoid-lösliche Präparat in die Schalenlipide zu diffundieren beginnt. Nach etwa 24 Stunden ist dieser Diffusionsvorgang nahezu abgeschlossen und das Präparat liegt in der Lipoidschicht bereits ziemlich gleichmäßig verteilt vor. Dadurch ist den Insekten, die die Oberfläche lediglich oberflächlich berühren, z. B. den Fliegen, nur noch ein geringer Teil zugänglich. Die Wirksamkeit der Oberfläche entspricht (vergl. graphische Darstellung Abb. 19) etwa 0,002 %, so daß nach 24 Stunden ungefähr neun Zehntel der aufgetragenen Präparatmenge mit dem Oberflächentest nicht mehr nachweisbar sind. Diese Verdünnung liegt auch im trockenen Ätherextrakt vor, da der Äther nicht nur das E 605 löst, sondern auch einen großen Teil der Schalenlipide (z. B. die wachsähnlichen Epidermisausscheidungen), die nach Verdunsten des Äthers in der Petrischale als dichter, weißer, scholliger Belag zurückgeblieben. Drei Stunden nach der Behandlung war die Schale wirksamer als der Ätherextrakt. Demnach war die Präparatverteilung in den Lipoidschichten nach drei Stunden noch nicht so weit fortgeschritten, wie in dem Extrakt, in welchem durch die Lösung in Äther das Präparat verteilt wurde. Ferner war der Ätherextrakt drei Stunden nach der Behandlung wirksamer als zu einem späteren Zeitpunkt. Das dürfte darauf zurückzuführen sein, daß nach dieser kurzen Zeit das Präparat noch nicht in die kutinisierte Schicht eingedrungen ist, die nicht abgelöst wird und später einen kleinen Teil E 605 zurückbehält. Es ist jetzt schon wahrscheinlich, daß die schnelle Wirksamkeitsabnahme des Präparates auf dem Apfel wesentlich nur in seiner Verteilung in den Schalenlipoiden ihren Grund hat und daß weder eine nennenswerte chemische Inaktivierung, noch ein schnelles Verdampfen oder ein allmähliches Eindringen in tiefere Schichten daran beteiligt sind. (Der beim Lagern der behandelten Äpfel durch Verdampfen entstehende Präparatverlust darf, abgesehen von dem entsprechenden Ergebnis der 14. Versuchsreihe, schon deshalb als unerheblich angesehen werden, weil der an sich schon geringe Dampfdruck des Präparates in wachähnlicher Lösung noch weiter herabgesetzt wird.) Doch weitere Versuche sollen über die Berechtigung dieser Deutung noch entscheiden.

15. Versuchsreihe:

Wenn der anfänglich schnelle Wirksamkeitsabfall des Präparates auf dem Apfel wirklich darauf zurückzuführen ist, daß es sich in den Lipoiden verteilt, müßte ein Modellversuch ein entsprechendes Ergebnis liefern. So wurden dünn abgehobene Schalen einzelner Äpfel der Sorte Ontario je mit 20 cm³ Äther extrahiert und der Extrakt in Petrischalen bei Zimmertemperatur getrocknet. Es blieb, wie schon erwähnt, ein weißer Belag der ätherlöslichen Schalenbestandteile zurück. Nun wurden je 400 mg von 0,02%iger E 605 f-Brühe (die Menge entspricht derjenigen, die durchschnittlich auf gespritzten Äpfeln dieser Sorte verbleibt) auf den Extraktückständen und auf entsprechenden Glasflächen möglichst gleichmäßig verteilt. Die Brühe wurde aufgepinselt, nachdem die Petrischalen auf 10 mg genau gewogen waren, um durch weitere Wägungen die aufgetragene Menge zu kontrollieren. Nach drei Stunden war der Belag völlig angetrocknet und konnte mit Fliegen besetzt werden. Der Test ergab, daß mit geringer Streuung die Fliegen auf Glas nach 55 Minuten und auf den Extraktückständen nach 450 Minuten zu 100 % lauf- und flugunfähig wurden. Dieses Ergebnis entspricht also vollkommen den festgestellten Verhältnissen auf dem lebenden Apfel.

16. Versuchsreihe:

Mit einer der 14. ähnlichen, jedoch weniger ausgedehnten Versuchsreihe sollte festgestellt werden, ob sich höhere E 605 f-Konzentrationen auf der Apfelschale ebenso verhalten wie die 0,02%ige Brühe. Zu diesem Zweck wurden Äpfel der Sorten Jonathan und Champagner Renette entsprechend mit 1%iger Brühe gespritzt. Nach 24 Stunden aufgesetzte Fliegen starben 100%ig nach 125 Minuten und drei Wochen später nach 160 Minuten. Also erleidet auch hier das Präparat auf der Oberfläche eine ganz erhebliche Verdünnung, denn auf 1%iger Brühe sterben die Fliegen im Durchschnitt nach 23 Minuten. Nach drei Wochen ist die Wirksamkeit kaum geringer geworden. Im Vergleich zur 14. Versuchsreihe ergab sich hier kein neuer Gesichtspunkt. Die 1%ige Spritzung wurde von den Äpfeln ebenso ohne jeden Schaden vertragen wie die 0,02%ige.

17. Versuchsreihe:

Wenn es stimmt, daß die Schalenlipide des Apfels für E 605 gute Lösungsmittel sind, müßte es gelingen, durch mehrtägiges Einlegen von Äpfeln in 0,01%ige E 605 f-Brühe das Präparat in der Schale anzureichern und die Konzentration der Brühe herabzusetzen. Bei diesem Versuch mit den Sorten Jonathan und Champagner Renette zeigte sich, daß weitere drei Wochen nach neuntägigem Einlegen in die Brühe die Testfliegen auf den Früchten nach 110 Minuten 100%ig lauf- und flugunfähig wurden und nach sieben Wochen war die Wirksamkeit mit einer Abtötungszeit von 120 Minuten praktisch unverändert geblieben. Die Wirksamkeit auf der Schale nach Dauerbehandlung ist also erheblich größer als die nach einer Kurzbehandlung (vergl. Abb. 24). Je 4 Äpfel wurden in 150 cm³ Brühe gelegt. Nach 24 Stunden wies die Brühe eine Abtötungszeit von 155 Minuten auf und blieb in der Folge nahezu unverändert, während die entsprechende Kontrollbrühe, die ohne Äpfel ebenso lange gestanden hatte, schon nach 80 Minuten die Fliegen tötete. Die Brühe hat also innerhalb der ersten 24 Stunden fast neun Zehntel ihres Wirkstoffgehaltes an die Äpfel abgegeben (vergl. graph. Darst. Abb. 19) und erlitt in den nächsten 8 Tagen keinen nachweisbaren Verlust mehr. Wenn trotzdem die Wirksamkeit der Schalen nicht ganz an die der gebotenen Brühen herankommt, muß das seinen Grund darin haben, daß ein Unterschied darin besteht, ob E 605 in Lipiden oder in Wasser vorliegt. Aus dem schlechten Lösungsmittel Wasser wird das Präparat eben leichter an die Fliegentarsen abgegeben, als aus dem guten Lösungsmittel, das die Schalenlipide darstellen.

Es trifft also zu, daß das Präparat auf Grund von Lösungsverhältnissen von der Apfelschale sehr schnell elektiv absorbiert wird bis zu einem gewissen Sättigungsgrad, der allerdings bei Kurzbehandlungen mit Konzentrationen um 0,02 % nicht erreicht wird.

18. Versuchsreihe:

Es ist zwar unwahrscheinlich, daß E 605 in der Schale des Apfels einer fermentativen Inaktivierung von Bedeutung unterliegt, da vom zweiten Tag bis zu zehn Wochen ein Wirksamkeitsverlust nicht eindeutig in Erscheinung trat (vergl. Abb. 24). Doch zur Kontrolle wurden dünn abgehobene Schalen von je 4 Äpfeln in 150 cm³ 0,01%ige E 605 f-Brühe und reines Leitungswasser gebracht. Eine Hälfte des Ansatzes wurde zwecks Zerstörung der Fermente kurz bis zum Sieden erhitzt und ebenfalls eine Probe der Brühe ohne Schalen, um etwaige Veränderungen des Präparates durch die hohe Temperatur nicht zu übersehen

Im Fliegentest zeigte sich, daß das Präparat durch kurzes Aufkochen keinen Wirksamkeitsverlust erleidet. Ferner, daß die Fliegen auf dem Wasser, in welchem Apfelschalen einige Tage gelegen hatten, völlig gesund blieben. Jedoch war die Brühe durch die Apfelschalen erheblich an Präparat verarmt. Auf den ungekochten Proben starben die Fliegen nach 460 Minuten und auf den gekochten und daher fermentfreien nach 800 Minuten. Eine fermentative Inaktivierung liegt demnach in der Schale nicht vor. Das kurze Aufkochen scheint die Absorption des Präparates durch die Schalenlipide begünstigt zu haben.

bb) Die Durchlässigkeit der Apfelschale für das Präparat

Daß E 605 in die Apfelschale eindringt, kann bereits nach dem vorstehend Geschilderten als erwiesen angesehen werden. Ob es aber auch durch die Schale in das Fruchtfleisch gelangt, sollen folgende Versuchsreihen zeigen, bei denen die insektizide Wirkung des Fruchtfleisches geprüft wurde.

Methode: Beim Freilegen des Fruchtfleisches war es von entscheidender Bedeutung, die Übertragung von E 605-Spuren von der Schale zu vermeiden. Behandelte Äpfel wurden halbiert und an der Schnittfläche bis 1 cm unter dem Rand von der Schale befreit, um dann mit einem frischen Messer von der Schnittfläche eine dünne Scheibe des möglicherweise beim Halbieren verunreinigten Fruchtfleisches abzuheben. Nun wurde mit einem Korkbohrer von 2 cm Durchmesser von der Apfelmittle in radialer Richtung ein Fruchtfleisch-Zylinder ausgestanzt, der nach Abziehen des Schalenrestes an der Basis mit zwei verschiedenen Messern in drei Teile von ca. 1 cm Dicke zerschnitten wurde. Nun lagen drei Apfelstücke vor, die aus drei verschiedenen Bereichen des Fruchtfleisches stammten, nämlich aus dem Bereich dicht unter der Schale (o), aus der Mitte des Radius (m) und aus dem Innern in der Nähe des Kerngehäuses (i). Diese Stückchen wurden auf Glasscheiben zerquetscht, ausgebreitet und mit Fliegen getestet (Abb. 26).



Abb. 26: Entnahme des Fruchtfleisches aus behandelten Äpfeln.

Ergebnisse:

19. Versuchsreihe:

Nach einmaliger Kurzbehandlung (Spritzung oder Eintauchen) mit 0,01%iger E 605 f-Brühe blieben nach Tagen und Wochen alle Fruchtfleischschichten stets präparatfrei. Es muß daher angenommen werden, daß das Präparat von den Schalenlipoiden wegen ihrer großer Affinität zueinander festgehalten und an das wässerige Fruchtfleisch nicht weitergegeben wird, weil es für das Präparat ein schlechtes Lösungsmittel darstellt.

b) Versuche an unreifen Äpfeln

Die Ergebnisse der Versuche an reifen Lageräpfeln lassen zwar die Vermutung zu, daß sich unreife Äpfel dem Präparat gegenüber nicht wesentlich anders verhalten werden, jedoch wird die Entscheidung darüber erst durch einige weitere Versuche möglich.

20. Versuchsreihe:

Zunächst wurden walnußgroße Äpfel, die bei der normalen ersten Nachblütenspritzung am 22. Mai mit 0,02%iger E 605 f-Brühe gespritzt worden waren, nach 3, 4, 6 und 9 Tagen zu je 10 Stück oberflächlich mit Fliegen getestet. Die Äpfel wurden dabei erst kurz vor dem Test vom Baum genommen. — Dabei zeigte sich, daß nach drei Tagen die Abtötungszeit für Fliegen 10 Stunden betrug. Nach 4, 6 und 9 Tagen starben die Fliegen auf den Äpfeln bei einer 32stündigen Testdauer nur noch zum Teil, und zwar zu 20, 24 bzw. 45 %. Die Wirksamkeit blieb also in dem genannten Zeitraum vom 4. Tage an konstant, hatte aber keinerlei praktische Bedeutung mehr für Insekten, die die Schale nur oberflächlich berühren. Dies Ergebnis entspricht, von dem graduellen Unterschied abgesehen, dessen Ursache nicht eindeutig geklärt werden konnte, im Prinzipiellen den Versuchen an reifen Äpfeln. Diese Übereinstimmung ist keineswegs verwunderlich, nachdem festgestellt wurde, daß die Wachs- und Kutinschichten der walnußgroßen Äpfel schon eine beträchtliche Dicke erreicht hatten. Wie der Vergleich mikroskopischer Schnitte, die mit Sudan III angefärbt wurden, zeigte, waren sie schon fast halb so dick wie am ausgereiften Apfel. Im Fruchtfleisch ließ sich weder 4 noch 14 Tage nach der Spritzung eine Spur von Präparat nachweisen.

21. Versuchsreihe:

Der 18. Versuchsreihe entsprechend wurden auch die grünen Schalen unreifer Äpfel auf ihre Absorptions- und fermentative Inaktivierungsfähigkeit dem Präparat gegenüber geprüft. Es ergab sich dabei, daß sich die grünen Schalen unreifer Äpfel ebenso verhalten wie die Schalen reifer Äpfel (Abb. 27).

Besprechung:

Die Versuche an unreifen Äpfeln ergaben keine neuen Gesichtspunkte. Sie stellen damit nur eine weitere Bestätigung dessen dar, was über das Verhalten von E 605 nach Auftragen auf den reifen Apfel bereits gesagt wurde. Die allgemein gerühmte gute Wirkung des Präparates gegen Obstmaden dürfte darauf zurückzuführen sein, daß sich die Larve bereits in der Schale vergiftet, in der das Präparat deutlich festgehalten wird. Während sie sich durch die Schale nagt, kommen ihre Mundteile in innige Berührung mit den Schalenlipoiden und damit auch mit dem tödlichen Gift. Es ist also ein wesentlicher Unterschied für die Giftwirkung der Apfelschale, ob ein Insekt die Oberfläche lediglich mit den Tarsen

Wirkung grüner Apfelschalen auf E 605 f-Brühe

Nach 14 Tagen

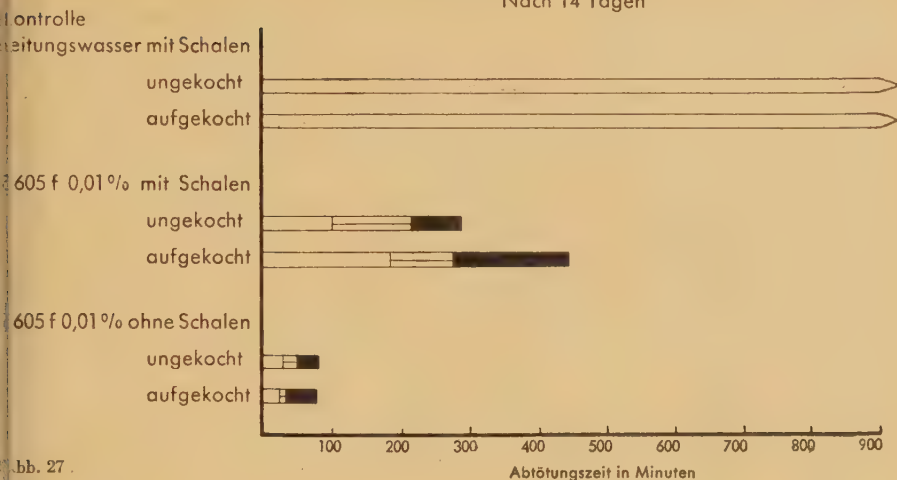


Abb. 27

berührt, wie z. B. die Stubenfliege, oder ob es die Schale mit den Mundwerkzeugen bearbeitet, wie es z. B. die Obstmaden tun. Sy (L.V. 26) weist in einer Arbeit über die Bekämpfung des Apfelwicklers nach, daß das Präparat bei termingerechter Anwendung gegen die erste Generation zwar hochwirksam ist, daß die Wirksamkeit der behandelten Früchte aber nicht in dem Maße anhält, daß mit dieser einmaligen Spritzung zehn Wochen später noch die zweite Generation wirksam erfaßt werden könnte. Da nach unseren Untersuchungen die Wirksamkeit der behandelten Schale ausgewachsener Äpfel mit der Zeit zumindest keine starke Beeinträchtigung erfährt, muß der Hauptgrund für Sys Beobachtungen im Wachstum der Frucht und der damit verbundenen Verdünnung des Präparates durch die neu ausgeschiedenen Schalenlipide gesehen werden. Inwieweit die Ergebnisse der Apfelversuche auch auf andere Früchte übertragen werden können, soll nun im Folgenden behandelt werden:

c) Versuche an Weinbeeren

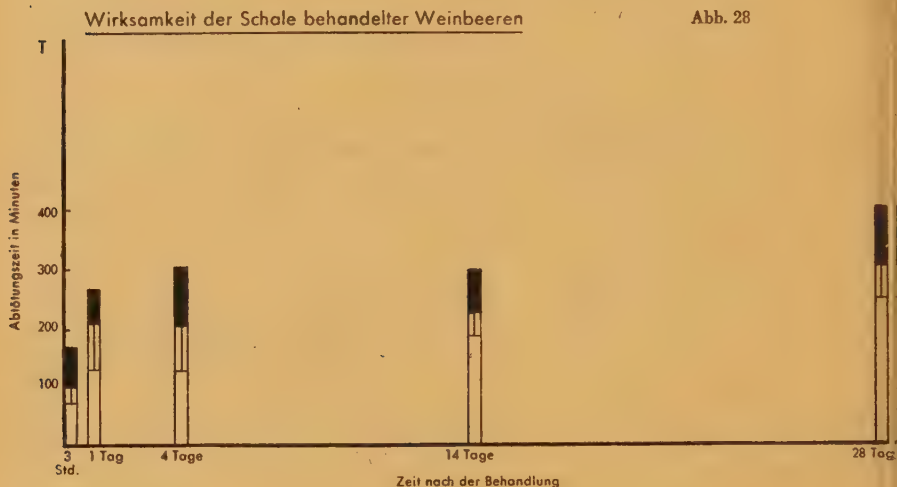
Es wurde mit drei verschiedenen Sorten gearbeitet, die sich völlig gleich verhielten.

2. Versuchsreihe:

Methode: Weintrauben wurden Kurzbehandlungen mit 0,02%iger E 605 f-Brühe unterzogen, und zwar

1. in nahezu ausgewachsenem Zustand am Stock durch einmalige Spritzung,
2. desgleichen durch dreimalige Spritzung innerhalb einer Woche,
3. reife weiße Brüsseler Gewächshaustrauben durch einmaliges kurzes Eintauchen,
4. desgleichen blaue Brüsseler Gewächshaustrauben.

Die Beeren wurden zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Behandlung zu je 10 Stück ohne Stiele oberflächlich mit Fliegen getestet. Die am Stock behandelten Früchte wurden jeweils erst kurz vor dem Test gepflückt, während die Brüsseler Gewächshaustrauben in einem kühlen Kellerraum aufbewahrt wurden. Die Behandlung wurde ohne Nachteil vertragen.



Ergebnis: Die Abtötungszeiten waren so einheitlich, daß sie in einem Blockdiagramm (Abb. 28) zusammengefaßt werden können. Auffällig war, daß sich die dreimal gespritzten Beeren nicht deutlich toxischer zeigten als die anderen. Ebenso blieb ohne Auswirkung, ob die Trauben nach der Behandlung am Stock blieben oder ob sie in einem Kellerraum aufbewahrt wurden.

Die getesteten Ätherextrakte von je 10 Beeren ergaben das gleiche Bild. Auch hier enthielt, wie bei den Äpfeln, der Extraktückstand verhältnismäßig große Mengen Schalenlipide. Aus dieser Versuchsreihe geht hervor, daß sich behandelte Weinbeeren bezüglich ihrer Schalenwirksamkeit ebenso wie Äpfel verhalten und daß sich in einem kurzen Zeitraum wiederholte Spritzungen praktisch nicht auf die Wirksamkeit der Fruchtschalenoberfläche auswirken.

23. Versuchsreihe:

Um der Frage nachzugehen, ob nach 0,02%iger Kurzbehandlung das Präparat durch die Schale ins Fruchtfleisch gelangt, wurden aus der vorigen Versuchsreihe Beeren jeder Sorte und Behandlungsart vorsichtig ausgedrückt. Eine Berührung des Fruchtfleisches mit der Schale wurde möglichst vermieden, indem die Schale mit einer Pinzette aufgerissen und das Fruchtfleisch aus dieser Öffnung entleert wurde.

Ergebnis: Tage und Wochen nach der Behandlung ergab sich stets das gleiche Bild. Die Fliegen blieben während der 24stündigen Testdauer auf dem Fruchtfleisch behandelter Beeren ebenso gesund wie auf den unbehandelten Kontrollbeeren. Demnach gelangt das Präparat auch bei Weinbeeren nach Kurz-

behandlung mit 0,02%iger Brühe nicht in das Fruchtfleisch. Selbst dann nicht, wenn die Kurzbehandlung innerhalb einer Woche dreimal wiederholt wird.

4. Versuchsreihe:

Um die im Anschluß an die Apfelversuche vertretene Ansicht, daß das Präparat von den Schalenlipoiden festgehalten und nicht an ein wässriges Lösungsmittel weitergegeben wird, weiter zu prüfen, wurden Weintrauben dem Keltervorgang entsprechend ausgepreßt. Die wie in der 22. Versuchsreihe geschildert behandelten Trauben wurden mit ihren Stielen in den Deckel einer Petrischale gelegt und mit dem umgekehrten Bodenteil zerdrückt. Dabei kam der Saft mit den präparathaltigen Schalen in innige Berührung. Trotzdem ergab der anschließende Fliegentest eine völlige Ungiftigkeit des Saftes, während der Ätherextrakt der ausgedrückten Schalen voll wirksam war. Demnach vermag der Saft als wässriges Medium das Präparat nicht aus der Schale herauszulösen.

Nach diesen Versuchen läßt sich zusammenfassend sagen, daß sich das Präparat nach Aufbringen auf die Weinbeere ebenso verhält wie beim Apfel.

d) Versuche an Citrusfrüchten

Als weitere Versuchsobjekte dienten Zitronen (*Citrus limonium*) und Apfelsinen (*Citrus aurantium*), bei denen insofern an ein anderes Verhalten des Präparates auf und in der Schale gedacht werden mußte, als ihre Schale weniger homogen aufgebaut und von zahlreichen ätherisches Öl enthaltenden Sekretbehältern durchsetzt ist.

5. Versuchsreihe:

Methode: Die Früchte wurden in reifem ausgefärbtem Zustand einmalig mit 0,02%iger E 605 f-Brühe gespritzt und anschließend zum Antrocknen des Belages bei Zimmertemperatur auf einem Tisch einzeln ausgelegt. Die Schale blieb durchweg gut benetzt. Zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Spritzung wurden im Fliegentest geprüft:

1. die Oberfläche der einzelnen Früchte,
2. der trockene Rückstand des Ätherextraktes, der aus den zerkleinerten Schalen durch 15 Minuten langes Schütteln mit 20 cm³ Äther gewonnen wurde,
3. das ätherische Öl aus der Schale, das durch leichtes Knicken und Drücken auf Glasscheiben gespritzt und nach Antrocknen mit Fliegen besetzt wurde. Das frisch ausgedrückte Öl der Zitrone wirkte in feuchtem Zustand betäubend auf die Fliegen,
4. das äußere Fruchtfleisch.

Mit unbehandelten Früchten wurden den einzelnen Ansätzen entsprechend Kontrollteste durchgeführt.

Ergebnis: Die für die Schale ermittelten Abtötungszeiten entsprachen vollkommen denen der Äpfel und Weinbeeren. Das Fruchtfleisch blieb präparatfrei. Merkwürdigerweise war der Präparatgehalt der ätherischen Öle in der Schale auffällig gering. Diese Tatsache dürfte jedoch ihre Erklärung darin finden, daß die Hauptmenge des Präparates in den Lipoidschichten festgehalten wird, die auch die Sekretbehälter überdecken. Von den unbehandelten Fruchtteilen einschließlich deren Ätherextrakt blieben die Fliegen unbeeinflusst.

26. Versuchsreihe:

Ebenfalls wurden Citrus-Früchte einer Dauerbehandlung unterzogen, indem sie für 6 Tage in 0,01%ige Brühe eingelegt wurden. Die stattgefundene Präparatanreicherung in der Schale kam in den Testen deutlich zum Ausdruck. Doch drang das Präparat auch nach dieser Vorbehandlung nicht in das obere Fruchtfleisch ein.

e) Versuche an Tomaten

27. Versuchsreihe:

Tomaten, die die erste gelbliche Reifetönung zeigten, wurden für eine Sekunde in 0,01%ige E 605 f-Brühe getaucht. Etwa 50 % ihrer Oberfläche blieb nach dem Herausnehmen benetzt. Nachdem der Belag angetrocknet war, wurden drei Stunden später der erste Test durchgeführt. Die Fliegen wurden nach 230 Minuten zu 100 % lauff- und flugunfähig. Nach drei Tagen hatte jedoch die Wirksamkeit der Schale erheblich stärker nachgelassen, als wir es bei den bisherigen untersuchten Früchten feststellen konnten. Es dauerte fast neun Stunden, bis die erste Fliege in dauernde Rückenlage kam und nach 24 Stunden waren noch immer 20 % der Fliegen gesund. Nach weiteren 14 Tagen wurde mit einer weiteren Testserie festgestellt, daß die Tomaten praktisch unwirksam geworden waren. Das Fruchtfleisch erwies sich zu diesem Zeitpunkt als präparatfrei. Die Schale enthielt jedoch das Präparat noch in beachtlicher Menge, wie durch Extraktion mit Äther festgestellt werden konnte. Die Fliegen starben auf dem trockenen Rückstand des Ätherextraktes zu 100 % nach 240 Minuten. Der Ätherextraktrückstand von Tomatenschalen enthielt im Gegensatz zu demjenigen von Äpfeln und Weinbeeren keine auffälligen Mengen ätherlöslicher Schalenlipide.

Bei der Tomate gelangt also nach Kurzbehandlung mit der insektiziden Gebrauchskonzentration das Präparat ebenfalls nicht in das Fruchtfleisch, doch hält sich hier die Wirksamkeit der Schalenoberfläche nicht wie bei den anderen Früchten wochenlang nahezu auf einem bestimmten Wert, sondern ist bereits nach 14 Tagen nicht mehr nachweisbar, obwohl die Schale in ihren tieferen Schichten das Präparat noch in extrahierbarer Form enthält. Für das völlig Unwirksamwerden der Tomatenoberfläche kann zunächst noch keine Erklärung gegeben werden.

f) Versuche an Kartoffelknollen

Nachdem mehr oder weniger ähnliche Fruchtschalen auf ihre Durchlässigkeit für das Präparat geprüft wurden, sollten nun die Verhältnisse auf einer andersartigen Schale untersucht werden. Die Kartoffelknolle erschien daher mit ihrer Korkschale als geeignetes Objekt.

28. Versuchsreihe:

Kartoffelknollen, die drei Monate vorher eingekellert worden waren, wurden kurz in 0,02%ige E 605 f-Brühe eingetaucht. Die Schale blieb vollkommen benetzt und behielt wochenlang nahezu unverändert ihre Wirksamkeit bei. Doch im Fruchtfleisch war auch dann keine Präparatspur nachweisbar, wenn die Knollen 6 Tage lang in 0,01%iger Brühe gelegen hatten. Demnach ist auch die korkige Kartoffelschale für die Ausbreitung des Präparates ein praktisch unüberwindliches Hindernis.

29. Versuchsreihe:

Daß die Schale das Eindringen des Präparates in die Frucht verhindert und nicht das Fruchtfleischgewebe selbst, ließ sich dadurch beweisen, daß weitere

Kartoffelknollen, und zwar ungeschälte und geschälte sechs Tage lang in 0,01%ige Brühe eingelegt und anschließend innerlich mit Fliegen auf ihren Präparatgehalt geprüft wurden. Es zeigte sich dabei, daß bereits nach diesen sechs Tagen die geschälten Kartoffeln bis ins Innere von dem Insektizid durchdrungen waren, während sich die ungeschälten Kartoffeln auch nach weiteren 14 Tagen innerlich noch vollkommen präparatfrei gehalten hatten.

g) Bestimmung der Wirkstoffmenge auf normal gespritzten Früchten

Da das Präparat auch für Warmblüter in gewisser Konzentration und Menge nicht ungiftig ist, ist es von pharmakologischem Interesse, wieviel Wirkstoff praktisch auf verschiedenen Früchten haftet, wenn sie gründlich mit der gebräuchlichen 0,02%igen E 605 f-Brühe gespritzt werden.

30. Versuchsreihe:

Das Ausgangsgewicht der Früchte wurde mit Hilfe einer Analysenwaage auf 10 mg genau bestimmt. Die Spritzung erfolgte mit einer Zerstäuberspritze, so daß alle Teile der zu spritzenden Objekte maximal benetzt wurden. — Mit einer erneuten Wägung wurde dann die Menge des anhaftenden Spritzbelages bestimmt. — Als Versuchsobjekte dienten: reife Lageräpfel der Sorten Schöner aus Boskoop als rauhschaliger Vertreter, Ananasrenette, Zuccalmaglios Renette und Jonathan als glattschalige Vertreter, ferner Brüsseler Gewächshaustrauben einer weißen und einer blauen Sorte. Die Apfelsorten wurden auf Grund ihrer verschiedenen Schalenqualitäten gewählt und die kleinsten Exemplare der einzelnen Sorten ausgesucht, um eine möglichst große Oberfläche pro kg zu haben. — Die Trauben wurden vor der Spritzung aus wägungstechnischen Gründen in Teile von je 12 Beeren zerschnitten. In der folgenden Tabelle 3 werden nur die Durchschnittsgewichte der Früchte und ihres Spritzbelages angegeben, da sich die zahlreichen ermittelten Einzelwerte nur ganz unwesentlich davon unterscheiden.

Die mittlere tödliche Dosis des unverdünnten E 605-Wirkstoffes, wie er in den Handelspräparaten E 605 forte und E 605-Folidol zu 50 % bzw. 7 % enthalten ist, beträgt für die Ratte bei oraler Aufnahme 15 mg pro kg Körpergewicht.*) Wenn man auf dieser Grundlage errechnet, welche Gewichtsmenge von den behandelten Früchten Ratten auf einmal fressen müßten, um pro kg Körpergewicht die eben tödliche Dosis des Wirkstoffes zu erhalten, so ergeben sich die Zahlen, die in der letzten Querspalte der Tabelle 3 angegeben sind. Diese Zahlen bedeuten gleichzeitig die Angabe, das Wievielfache ihres Körpergewichts eine Ratte auf einmal fressen müßte, um sich an dem Wirkstoff zu vergiften. Natürlich ist das praktisch unmöglich. Dabei ist noch unberücksichtigt gelassen, daß die Toxizität nicht nur von der gebotenen Wirkstoffmenge, sondern auch in starkem Maße von der vorliegenden Konzentration abhängt. Es ist nicht anzunehmen, daß diese Verhältnisse beim Menschen eine andere Größenordnung haben würden. Daher ist auch eine Vergiftung des Menschen durch eine entsprechende größere Fruchtmenge, die mit E 605 gespritzt wurde, undenkbar. In Wirklichkeit liegen diese Gewichtsmengen noch erheblich höher, da in der Praxis nur Früchte gespritzt werden, die noch längst nicht ihre volle Größe erreicht haben und im Durchschnitt erheblich größer werden als diejenigen, die bei diesem Versuch mit Absicht benutzt wurden, um den ungünstigsten Fall zu untersuchen.

*) Nach Unterlagen des Gewerbehygienischen Instituts, Elberfeld.

Tabelle 3

Spritzbrühe: E 605 f 0,02 %, Temperatur 20° C

Durchschnittsgewichte	Fruchtsorte				
	Weintrauben	Ananas-Renette	Zuccalmaglios-Renette	Jonathan	Schöner aus Boskoop
Frucht	88 g	71 g	82 g	66 g	139 g
Spritzbelag	847 mg	253 mg	315 mg	259 mg	611 mg
Spritzbelag pro kg Früchte . .	8,91 g	3,58 g	3,85 g	3,92 g	4,37 g
E 605 f im Spritzbelag pro kg Früchte .	1,78 mg	0,72 mg	0,77 mg	0,78 mg	0,85 mg
E 605 rein im Spritzbelag pro kg Früchte .	1,35 mg	0,50 mg	0,54 mg	0,55 mg	0,60 mg
Fruchtmenge, die 15 mg E 605 rein enthält .	11 kg	30 kg	28 kg	27 kg	25 kg

3. Auswertung der Ergebnisse

Reife Lageräpfel und unreife am Baum, Weinbeeren gepflückt und am Stock, Citrus-Früchte, Tomaten und Kartoffelknollen wurden auf die Durchlässigkeit und das Absorptionsvermögen ihrer Schalen für das Präparat geprüft. Ebenfalls wurde die Wirksamkeit der behandelten Schalen in ihrem zeitlichen Verlauf verfolgt. Es ergab sich, daß E 605 nach Kurzbehandlung in gebräuchlicher Konzentration von der Schale begierig aufgenommen wird. Die Wirksamkeit der Oberfläche nimmt dadurch innerhalb der ersten Stunden stark ab, um dann bald, spätestens aber nach dem dritten Tag, nahezu konstant zu bleiben. Die restliche Toxizität der Oberfläche ist praktisch ohne große Bedeutung. Doch das in den Schalenlipoiden gespeicherte Präparat ist ein recht beständiger Schutzwall gegen Schädlinge, die sich durch die Schale nagen. Mit der Verdünnung, die das Präparat auf dem wachsenden Apfel durch Vergrößerung der Schalenfläche und durch Ausscheidung weiterer wachsähnlicher Substanzen erfährt, könnte die von Sy festgestellte zeitliche Begrenzung der Wirksamkeit in der Schale erklärt werden. Für eine andere Deutung sind nur unzureichende Anzeichen gegeben. Bei der in der Pflanzenschutzpraxis üblichen Anwendung des Präparates bleibt seine Ausbreitung auf die Schalenlipide beschränkt. Da es aus der Schale weder in das Fruchtfleisch noch beim Keltervorgang in den Traubensaft übergeht, dürften ganz allgemein alle wässerigen Lösungsmittel, also auch der Regen, nicht in der Lage sein, das Präparat aus den Schalenlipoiden herauszulösen.

Das Präparat verhielt sich auf allen geprüften Früchten grundsätzlich gleich. Lediglich die Tomate nimmt insofern eine Sonderstellung ein, als die behandelte Schalenoberfläche in weit größerem Maße ihre Wirksamkeit verliert, als alle anderen geprüften Früchte.

VI.

Zur Frage der Leitung des Präparates in der Pflanze

Aus mehreren bereits angeführten Versuchen ergibt sich, daß eine Ausbreitung bzw. Leitung des Präparates in der Pflanze möglich ist. Die insektizide Wirksamkeit der Guttationsflüssigkeit könnte nicht erklärt werden, wenn man die Leitfähigkeit der Sproßepidermis, des Blattgewebes, des Wurzelgewebes und der Holzgefäße leugnen wollte. Ferner könnte das Innere geschälter Früchte nach äußerlicher Anwendung des Präparates für Fliegen nicht toxisch werden, wenn das Fruchtfleischgewebe für das Präparat nicht passierbar wäre. Demnach ist die Frage in ganz allgemeiner Form schon beantwortet. Es liegt jedoch noch kein Nachweis darüber vor, ob die Plasmagrenzschichten für das Präparat durchlässig sind, ob es in den Saftraum der Zelle gelangt oder ob es unter Umgehung der lebenden Zellbestandteile nur durch die Membranen wandert, ferner ob es nur durch das Gewebe diffundiert oder auf die Mithilfe lebender Zellen angewiesen ist. Ebenfalls ist noch ungeklärt, ob es in den organischen Saftstrom des mit lebendem Plasma ausgekleideten Phloems gelangen und so basipetal und in die Früchte, Wurzeln und Knollen gelangen kann, wenn der Sproß gespritzt wird.

Mit den nun folgenden Untersuchungen und Überlegungen soll versucht werden, der Klärung dieser noch offenen Fragen näherzukommen.

A. Leitung auf kurze Strecken

Für den Stofftransport in der Pflanze auf kurze Entfernungen wird der Diffusion allgemein eine besondere Bedeutung zugesprochen, wenn auch die Tatsache, daß vielfach Stoffe nur in einer Richtung durch die Zellen transportiert werden, darauf hinweist, daß nicht ausschließlich reine Diffusionsvorgänge bei diesen Stofftransporten beteiligt sind, sondern auch die Struktur und Tätigkeit des lebenden Plasmas, jedoch nicht seine Strömung, eine Rolle spielen (Schumacher, L. V. 19). Ferner konnte Strugger mit zahlreichen Versuchen nachweisen, daß der Stofftransport nicht lediglich durch die Zellumina erfolgt, sondern daß sich das Wasser auch sehr rasch in den submikroskopischen Räumen der Zellwände ausbreitet (Geßner, L. V. 7).

Bei den vorhergehenden Versuchen hatte sich gezeigt, daß sich Früchte auch für die Untersuchung dieser Frage hervorragend eignen. Die große Masse einheitlichen Gewebes gestattet die Geschwindigkeit der Präparatsausbreitung zu verfolgen und daraus Schlüsse auf deren Mechanik zu ziehen.

1. Versuche und Ergebnisse

a) mit lebenden Früchten

1. Versuchsreihe:

Wurden geschälte Äpfel von ca. 6 cm Durchmesser äußerlich mit einer 1%igen E 605 f-Brühe gespritzt, so ergab sich im Fliegentest, daß nach einer Woche nur das äußere Fruchtfleisch deutlich toxisch war, während das mittlere nur vereinzelt nach vielen Stunden die Fliegen schädigte und das innere noch

völlig ungiftig war. Nach einer weiteren Woche war auch die mittlere Fruchtfleischschicht deutlich präparathaltig, jedoch weniger wirksam als die äußere und die innere ließ nur hin und wieder Spuren erkennen. Nach vier Wochen waren praktisch alle Schichten gleich toxisch, was auf den Ausgleich des anfänglich starken Konzentrationsgefälles von außen nach innen schließen läßt. Die Wanderungsgeschwindigkeit des Präparats im Fruchtfleisch des Apfels liegt demnach bei 10 mm pro Woche. — Entsprechende Versuche an Kartoffeln und unreifen Äpfeln führten zu gleichsinnigen Ergebnissen.

Nun erhob sich die Frage, ob das lebende Gewebe an der Ausbreitung des Präparates beteiligt ist oder ob die Erklärung in einem reinen Diffusionsvorgang gesucht werden muß.

b) mit abgetöteten Früchten

32. Versuchsreihe:

Es galt daher, das Fruchtfleisch abzutöten, um die Wanderungsgeschwindigkeit des Präparates unabhängig vom lebenden Plasma zu verfolgen. Dabei sollte möglichst die chemische Struktur des Fruchtfleisches unbeeinflusst bleiben. Zur Erreichung dieses Zieles wurde im Erfrieren die beste Möglichkeit gesehen, dabei -5°C im Eisschrank durchgeführt wurde. Die Spritzung der geschälten Äpfel mit 0,1%iger Brühe erfolgte gleich im Anschluß ans Auftauen. Die erfolgte Abtötung zeigte sich innerhalb kurzer Zeit im Faulen der Früchte. Die anschließende Prüfung auf den Präparatgehalt des Fruchtfleisches im Fliegentest ergab, daß sich auch hier das Präparat im Fruchtfleisch ausbreitete, und zwar fast doppelt so schnell wie im lebenden Apfel.

2. Auswertung der Ergebnisse

Die Ausbreitungsgeschwindigkeit des Präparats im lebenden Fruchtfleisch mit ungefähr 10 mm pro Woche weist auf einen reinen Diffusionsvorgang hin, zumal die lebenden Zellen keinen beschleunigenden Einfluß ausüben. — Schumacher (L. V. 19) gibt für die Diffusionsgeschwindigkeit von 1%iger Fluoreszeinlösung in Wasser bei 20°C eine Tabelle an, die hier auszugsweise wiedergegeben werden soll.

Tabelle 4

Zeit	1 "	1 '	1 h	24 h	30 d	360 d
Durchwanderte Strecke in mm	0,087	0,675	5,23	25,6	140	486

Da die Molekulargewichte von Fluoreszein (332) und E 605 (291) nicht wesentlich verschieden sind, mag es erlaubt sein, ihre Diffusionsgeschwindigkeiten größenordnungsmäßig zu vergleichen. Freilich müssen dabei die Löslichkeit der beiden Stoffe und die Diffusionsmedien berücksichtigt werden, wodurch für die Ausbreitungsgeschwindigkeit von E 605 im Fruchtfleisch geringere Werte erwartet werden dürfen. Ein Transport durch Massenströmung im Lagerapfelscheidet von vornherein aus. Daß die lebende Zelle die Ausbreitung erschwert, aber nicht fördert, beweist ebenfalls einen rein physikalischen Transportvorgang. Die Diffusionsbeschleunigung im toten Gewebe dürfte ihre Ursache in postmortalen Veränderungen des Gewebes und vielleicht auch in dem beim Faulen des Apfels gebildeten Alkohol haben. Es ist dagegen schwer einzusehen, daß die lebenden Plasmagrenzschichten das lipophile Präparat wesentlich in seiner Aus-

Leitung beeinträchtigen sollten. Demnach scheint die Ausbreitung des Präparates im pflanzlichen Gewebe ohne Mithilfe des lebenden Plasmas ein reiner Diffusionsvorgang zu sein. Auch das Eindringen in das Blatt läßt sich so zwanglos erklären, da die Blattkutikula wegen ihres lipophilen Charakters für das Präparat durchlässig ist und ihre geringe Schichtdicke keine nennenswerte Speicherung zuläßt. Andere Stoffbewegungen im Blattgewebe dürften praktisch ohne Einfluß auf die Präparatausbreitung sein, da verschiedene Stoffe in einem Medium unabhängig voneinander diffundieren. Der Diffusionsvorgang kommt in gleichartigen Medien nicht eher zum Stillstand, bis ein anfängliches Konzentrationsgefälle völlig ausgeglichen ist. Findet nun an einer Stelle eine Ableitung des Präparates statt, wie z. B. in den Holzgefäßen der Pflanze, so kommt es nicht eher zum Ausgleich des Konzentrationsgefälles, bis das Gewebe praktisch präparatfrei ist.

B. Leitung auf weite Strecken

Nachdem der Präparattransport auf kurze Strecken, also von Zelle zu Zelle, besprochen worden ist, soll nun der Transport auf weite Strecken, also von den Wurzeln zum Sproß und von den Blättern zu den Früchten und Wurzeln, untersucht werden.

Beim Ferntransport der Stoffe sind im wesentlichen nur die Leitbahnen im Pflanzenkörper bekannt, und zwar die Holzgefäße für die von der Wurzel aufgenommenen meist anorganischen Stoffe in wässriger Lösung und die Siebröhren für die in den Blättern gebildeten Assimilate. Während die ersten im wesentlichen die Stoffe apikalwärts leiten, kommt den letzten hauptsächlich der Transport basalwärts zu.

1. In den Holzgefäßen

Mit Hilfe der Guttationstropfenmethode wurde bereits nachgewiesen, daß das Präparat in Wurzeln zur Aufnahme gebotene Präparat schon über Nacht von der Wurzel zur Sproßspitze gelangt. Diese Tatsache kann nicht anders erklärt werden, als daß es im wesentlichen mit dem Guttationsstrom durch die Holzgefäße geleitet wurde. Wenn es schon feststeht, daß das Präparat in die Pflanze eindringt, vermutet es ohne weiteres ein, daß es auch in die toten Holzgefäße gelangt und von dem anorganischen Saftstrom mitgeführt wird. Es ist daher kaum noch erforderlich zu erwähnen, daß das Präparat kurze Zeit nach Einstellen abgeschnittener 40 cm hoher Sprosse verschiedener Gattungen und Familien in 0,1- oder 0,2-prozentiger E 605 f-Brühe in großer Menge in der Hauptachse, den Nebenachsen und in Stengeln und Spreiten der Blätter nachgewiesen werden konnte.

2. In den Siebröhren

Für die Leitung des Präparates in den Siebröhren liegt in den bisher getätigten Versuchen noch kein Hinweis vor. Vielmehr deutet die nur gelegentlich auftretende Schädigung von Blattläusen auf Pflanzen, denen E 605 f-Brühe in die Markhöhle injiziert oder im Sandboden geboten wurde, darauf hin, daß keine nennenswerten Mengen im Phloem auftreten.

Das Nächstliegende wäre nun gewesen, den Inhalt der Siebröhren direkt zu untersuchen, doch ist es kaum möglich, die für unsere Zwecke ausreichenden Saftmengen zu gewinnen. Außerdem hat man nach Anschneiden des Bastes nie die Gewähr, daß nicht auch Säfte anderer Herkunft austreten und zu Verunreinigungen führen. So schien die indirekte Untersuchung des organischen Saftes nach

seiner Anreicherung in Wurzeln, Knollen und Früchten bessere Aussicht auf Erfolg zu bieten. Es wäre sehr leicht denkbar, daß beträchtliche Wirkstoffmengen in die Speicherorgane gelangen würden, wenn die Oberfläche des gesamten Blattmaterials die Spritzbrühe aufnimmt.

a) Versuche und Ergebnisse

33. Versuchsreihe:

Methode: Von Mitte August bis Mitte September wurden im Gewächshaus die oberirdischen Teile von neun jungen Weinreben (*Vitis vinifera* L.) während fünf Wochen wöchentlich mit 0,1%iger E 605 f-Brühe gespritzt. Die Pflanzen waren ca. 50 cm hoch und waren im Vorjahre als Stecklinge von ein-jährigem Holz zur Bewurzelung gebracht worden und wurden anschließend in Töpfen gehalten. Beim Spritzen wurden die Töpfe umgelegt und sorgfältig mit Pappe abgedeckt, damit die Spritzbrühe weder direkt noch durch Herablaufen am Stengel in die Erde gelangen konnte. Erst nach Antrocknen des Belages wurden die Töpfe wieder aufrecht gestellt. Die Konzentration der Brühe wurde so hoch gewählt, um möglichst große Präparatmengen auf und in die Pflanze zu bringen. Zwei und fünf Tage nach der letzten Spritzung wurden die nicht zu stark verholzten und noch im Aufbau begriffenen Wurzeln von der anhaftenden Erde befreit, zu einem feinen Brei zerrieben und in frischem Zustand mit Fliegen getestet.

Ergebnis: Nach 24stündiger Testdauer zeigten die Fliegen keinerlei Vergiftungserscheinungen. Die Tests wurden mit vierfacher Wiederholung durchgeführt.

34. Versuchsreihe:

Nachdem nachgewiesen werden konnte, daß bei der Weinrebe nach gründlicher Sproßspritzung das Präparat nicht in die Wurzel gelangt, sollte nun festgestellt werden, ob es sich in den Beeren anreichert.

Methode: Zu diesem Zweck wurde ein an einer südöstlichen Hauswand stehender Weinstock am 20., 24. und 29. September gründlich mit 0,02%iger E 605 f-Brühe gespritzt. Die Trauben waren vorher mit Wachspapiertüten eingehüllt worden, um eine Benetzung der Beeren mit Spritzbrühe zu verhindern.

Am 30. September, also einen Tag nach der letzten Spritzung, wurden aus sechs verschiedenen Tüten je 10 Beeren zur Prüfung auf ihren eventuellen Präparatgehalt gepflückt. Dazu wurden zweimal 10 unversehrte Beeren, zweimal das



Abb. 29: Trauben in Wachspapiertüten.

ausgedrückte Fruchtfleisch und zweimal die Innenseiten der leeren Schalen von je 10 Beeren mit Stubenfliegen besetzt.

Ergebnis: Nach 24stündiger Testdauer waren sämtliche Fliegen noch völlig gesund. Auch am nächsten Tag ergab ein vierfacher Test mit je 10 zerdrückten Weinbeeren ein völlig gleiches Bild. Auch nach Extraktion von 100 solcher Beeren mit 20 cm³ Äther war der Rückstand des eingetrockneten Ätherextraktes für Fliegen völlig ungiftig.

5. Versuchsreihe:

Methode: Um festzustellen, ob nach mehrmaliger intensiver Sproßspritzung mit E 605 f-Brühe das Präparat in den wachsenden Knollen der Kartoffeln anreichert wird, wurden junge Kartoffelpflanzen von ca. 30 cm Höhe mit kleinsten Knollenansätzen innerhalb von fünf Wochen fünfmal mit 0,1%iger E 605 f-Brühe gespritzt. Die Pflanzen wurden im Gewächshaus in Töpfen gehalten und die Benetzung des Bodens mit Spritzbrühe in der oben für die jungen Weinreben geschilderten Weise verhindert. Drei Wochen nach der letzten Spritzung wurden die mittlerweile auf 2 bis 4 cm im Durchmesser angewachsenen Knollen äußerlich und innerlich in mehreren Schichten mit Fliegen besetzt.

Ergebnis: Während der 24stündigen Testdauer blieben sämtliche Fliegen gesund. Fünf Knollen von verschiedenen Pflanzen wurden auf diese Weise geprüft. Zu einem späteren Zeitpunkt wurde diese Versuchsreihe unter den gleichen Bedingungen wiederholt mit dem einen Unterschied, daß die Knollen bereits einen Tag nach der letzten Spritzung mit Fliegen ausgetestet wurden. Auch hier konnten keine Präparatspuren in den Kartoffelknollen nachgewiesen werden.

6. Versuchsreihe:

Ein weiterer Parallelversuch zu diesem Problem wurde an Speisekürbissen (*Cucurbita pepo* L.) im Freiland durchgeführt.

Methode: Die jungen Fruchtansätze wurden durch Wachspapiertüten gegen eine eventuelle Benetzung mit Spritzbrühe geschützt.

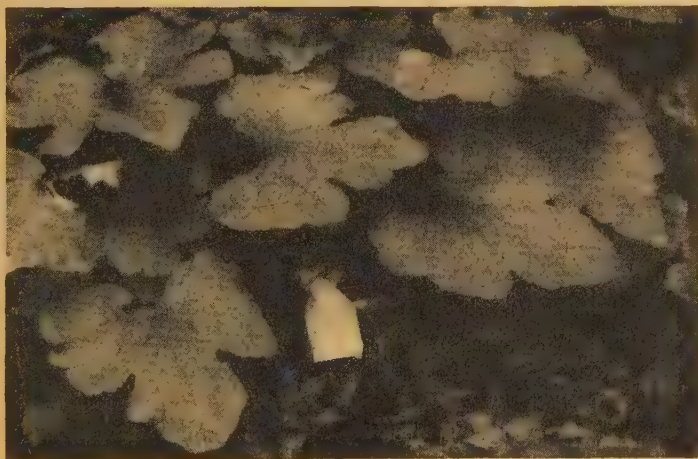


Abb. 30: Junge Kürbisfrucht in Wachspapiertüte.

Bei einigen Pflanzen wurden nur die Blätter oberhalb der Frucht, bei andern nur die Blätter unterhalb der Frucht und bei weiteren Pflanzen sämtliche Blätter gespritzt. Die Spritzungen wurden dreimal im Abstand von je einer Woche mit 0,1%iger E 605 f-Brühe durchgeführt, wobei die Blätter ober- und unterseits gründlich benetzt wurden und mit ihrer rauhaarigen Oberfläche einen verhältnismäßig starken Spritzbelag festhielten. Einen Tag nach der letzten Spritzung wurden einige Früchte, die mittlerweile ein Mehrfaches ihres Ausgangsgewichtes gewonnen hatten, aus den Papiertüten entnommen und in mehreren Breiprobe aus verschiedenen Fruchtbereichen mit Fliegen getestet.

Ergebnis: In keinem Falle zeigten die Fliegen innerhalb einer Testdauer von 24 Stunden irgendwelche Vergiftungssymptome.

37. Versuchsreihe:

Bei den vorstehenden Versuchen wurden zwar durch mehrmalige Spritzungen mit zehnfacher Gebrauchskonzentration verhältnismäßig große Präparatmengen auf die Pflanze gebracht, doch sollten mit einer anderen Versuchsanordnung der Pflanze noch größere Mengen zur Aufnahme geboten werden, um den grundsätzlichen Verhältnissen näherzukommen.

Methode: So wurden zwei bis drei Blätter an der Mitte von ca. 1 Meter langen Sprossen von *Tropaeolum majus* für mehrere Tage in 0,1%ige E 605 f-Brühe untergetaucht, während der Boden nur minimal gegossen wurde, um die Präparataufnahme durch die untergetauchten Blätter möglichst zu fördern. Nach einigen Tagen begannen die Blätter in den Brühen zu faulen, so daß keine normale Flüssigkeitsaufnahme mehr von ihnen erwartet werden konnte. Zu diesem Zeitpunkt wurden die Sproßachse, die Wurzel und die Blätter getrennt ober- und unterhalb der eingetauchten Blätter als Gewebsbrei mit Fliegen getestet.

Ergebnis: In der Regel waren alle Teile völlig präparatfrei. Nur in zwei Fällen, wo der Boden und die Luft so trocken geworden waren, daß die Blätter am Sproß erschlafften, konnten in der Sproßachse in der Nähe der Insertionsstellen der eingetauchten Blätter geringe Präparatmengen nachgewiesen werden.

Ein entsprechender Versuch wurde mit Kartoffelpflanzen durchgeführt, von denen je ein Blatt während einiger Tage täglich mehrere Stunden in die Brühe eingetaucht wurde, um die Nekrose hinauszuzögern. Auch hier blieben die übrigen Pflanzenteile präparatfrei.

b) Auswertung der Ergebnisse

Da mit dem Fliegentest Präparatmengen von einem Gamma innerhalb von 24 Stunden sicher nachweisbar sind, darf wohl aus der Tatsache, daß in den Wurzeln, Knollen und Früchten der gespritzten Sprosse keine Präparatspuren nachgewiesen werden konnten, geschlossen werden, daß das Präparat nicht mit den Assimilaten in den Siebröhren geleitet wird. In den Fällen, wo ein schwacher Präparattransport von den eingetauchten Blättern abwärts in die Hauptachse nachgewiesen wurde, dürfte die Ursache darin liegen, daß die extreme Trockenheit des Sprosses den Transpirationsstrom in den Holzgefäßen der untergetauchten Blätter umkehrte und auf diesem Wege das Präparat in den Stengel gelangte. Demnach spricht auch diese Erscheinung nicht gegen die offenbare Unmöglichkeit des Präparattransportes in den lebenden Siebröhren.

VII.

Zur Frage der Speicherung des Präparates in der Pflanze

Bei der Frage nach dem Verbleib des in die Pflanze eingedrungenen Präparates mußte daran gedacht werden, daß es möglicherweise in irgendein Organ abgeleitet und dort angereichert und gespeichert wird. Doch gerade die letzten Versuche haben ergeben, daß Wurzeln, Knollen und Früchte nach reichlichen Sproßspritzungen präparatfrei bleiben. Ebenfalls wurde festgestellt, daß weder in irgendwelchen Stengelteilen, noch in den Blättern eine Ablagerung stattfindet. Mit dem Unwirksamwerden der äußeren Pflanzenteile wurden stets auch alle inneren Gewebe präparatfrei. Lediglich die lipophilen Fruchtoberzüge, die korkige Schale der Kartoffelknolle sowie die Borke scheinen das Präparat festzuhalten. Der Verbleib des Präparates in der Pflanze ist also noch immer ungeklärt.

VIII.

Zur Frage der Rekretion von E 605 aus der Pflanze

Mit dem Nachweis der Toxizität der Guttationsflüssigkeit behandelter Pflanzen ist eine Ausscheidungsmöglichkeit erkannt. Doch viele Pflanzen sind nicht zum Guttieren befähigt und können sich daher auf diese Weise nicht des Präparates entledigen. Es wäre nun zunächst zu vermuten, daß sich diese Pflanzen durch Transpiration von dem fremden Stoff befreien. Mit einigen Versuchsreihen wurde dieser Vermutung nachgegangen.

38. Versuchsreihe:

Methode: Abgeschnittene *Vicia faba* und *Sinapis alba*-Sprosse wurden in 0,1%ige E 605 f-Brühe gestellt, von der sie in ein bis zwei Tagen rund 20 cm³ aufnahmen. Nachdem die Sprosse mit einer verhältnismäßig großen Präparatmenge imbibiert waren, verblieben die Stengel in der Brühe und der beblätterte Sproßteil wurde unter einen Glassturz von 22 cm Höhe und 2000 cm³ Fassungsvermögen gebracht. Die Glasstürze standen erhöht auf Glasscheiben und zwar an deren Rand, so daß die Sproßstengel weder gedrückt noch geknickt wurden. Die Öffnung neben dem Stengel wurde mit Zellstoff verstopft.



Abb. 31: Versuchsanordnung zur Prüfung der Transpirationsgase auf ihren Gehalt an E 605.

Bald darauf wurde eine rege Transpiration durch Beschlagen der

Glaswände deutlich. Nach einigen Tagen wurden unter die noch feuchten Glasstürze rund 40 Fliegen gebracht.

Ergebnis: Während einer 24stündigen Testdauer blieben alle Fliegen gesund. Bei Ausdehnung des Testes auf 5 Tage starben mit großer Streuung in den Kontrollgläsern durchschnittlich 10 % der Fliegen und in den anderen ca. 20 %. Bei der so großen Empfindlichkeit der Fliegen gegenüber E 605 ist jedoch eine so lange Testspanne sinnlos und dem geringen Unterschied in der Sterberate kann daher keine Bedeutung beigemessen werden.

Zu den gleichen negativen Ergebnissen führten weitere Transpirationsversuche, bei denen das Präparat als 1%ige Brühe zu 2 cm³ in die Markhöhle des unteren Stengelteiles intakter Pflanzen injiziert wurde. Auch blieb es belanglos für das Ergebnis, wenn die Glasstürze innen hauchdünn mit Schweineschmalz als Adsorbens für das Präparat eingefettet wurden.

Demnach kann das Verschwinden des Präparates aus der Pflanze nicht mit einer Rekretion durch Transpiration erklärt werden.

39. Versuchsreihe:

Methode: Die kutikulären Ausscheidungen wurden auf ihren Präparatgehalt geprüft, indem abgeschnittene Blätter von Sprossen, denen 0,1%ige E 605 f-Brühe in der vorher geschilderten Weise geboten worden war, mit Fliegen besetzt wurden. Die Stengelenden ragten dabei unter den Testgläsern hervor, so daß die Fliegen nicht mit dem austretenden Saft in Berührung kamen.

Ergebnis: Auf Tomatenblättern starben die Fliegen durchschnittlich nach 480 Minuten, auf *Vicia faba*-Blättern nach 1100 Minuten und auf Blättern von *Phaseolus vulgaris* waren nach 24stündiger Testdauer durchschnittlich 35 % der Fliegen vergiftet. Demnach muß damit gerechnet werden, daß wenigstens ein kleiner Teil des Präparates durch die Kutikula eliminiert wird.

40. Versuchsreihe:

Methode: Als weiterer Ort für eine mögliche Ausscheidung käme noch die Wurzel in Betracht. So wurden die Wurzeln der Kartoffel und der Weinrebe, die von groben Bodenteilen durch Schütteln und leichtes Klopfen befreit wurden, mit Fliegen besetzt. Das Präparat war durch fünfmaliges Spritzen in wöchentlichen Abständen mit 0,1%iger E 605 f-Brühe in den Sproß gebracht worden.

Ergebnis: Die Wurzeln und die anhaftenden kleinen Bodenteilchen blieben ohne jeden Einfluß auf die Fliegen. Demnach kommt die Wurzel für die Ausscheidung des Präparates nicht in Betracht. Diese Tatsache ist auch nicht weiter verwunderlich, da schon vorher nachgewiesen werden konnte, daß das Präparat vom Sproß überhaupt nicht in die Wurzel gelangt. So stehen mit Ausnahme der Hydatoden und der Epidermis weder die Stomata noch die Wurzeln im Dienste der Präparatausscheidung. Die Ausscheidung ist jedoch dort, wo sie nachgewiesen werden konnte, selbst nach Hineinbringen ungewöhnlich großer Präparatmengen in die Pflanze so gering, daß damit das Verschwinden des Präparates aus der Pflanze noch immer nicht befriedigend erklärt werden kann, und es bleibt nur noch die Möglichkeit einer chemischen Inaktivierung als wahrscheinliche Ursache zu prüfen.

Zur Frage der Inaktivierung des Präparates

Wenn man auf Grund der chemischen Konstitution des E 605-Moleküls zunächst annehmen möchte, daß es sich hier um einen recht instabilen Körper handelt, hat die Erfahrung gezeigt, daß dies nicht zutrifft. Klimatische Faktoren können weder als Sonnenlicht, Wärme noch Feuchtigkeit die Wirksamkeit des Präparates wesentlich beeinträchtigen. Es wurde auch bereits erwähnt, welche Schwierigkeiten es bereitet, die letzten Präparatspuren von Testgläsern zu entfernen. Doch wie verträgt sich mit dieser Erkenntnis die Erfahrung, daß mit dem Präparat gespritzte Pflanzen nach Tagen praktisch ihre insektizide Wirksamkeit verlieren? Mit dem Substanzverlust durch Verdampfen bei normaler Temperatur kann diese Erscheinung nicht erklärt werden, da doch die Wirksamkeitsdauer auf Glas und toter Zellulose wie Holz, Papier und Textilien ganz erheblich größer ist. Auch konnte keine gesteigerte Flüchtigkeit mit Wasserdampf nachgewiesen werden. Das „Versacken“ des Präparates ins Pflanzeninnere muß wohl zur Wirksamkeitsabnahme der Oberfläche beitragen. Aber allein reicht diese Begründung nicht aus, sonst müßte wenigstens das eingedrungene Präparat im Pflanzeninnern lange Zeit nachweisbar bleiben.

Es war bisher nur bekannt, daß die grünen Teile der mit den gebräuchlichen Konzentrationen gespritzten Pflanzen nach einigen Tagen ihre insektizide Wirksamkeit verlieren. Die ursächlichen Vorgänge lagen noch in völligem Dunkel. Nach unseren bisherigen Untersuchungen muß der entscheidende Faktor in einer chemischen Inaktivierung zu suchen sein. Zunächst sollte daher unter leicht kontrollierbaren Bedingungen geprüft werden, ob tatsächlich das Präparat in der Pflanze inaktiviert wird.

A. Die E 605-Inaktivierung in der Pflanze

1. Im grünen Sproß

41. Versuchsreihe:

Methode: Als Versuchsobjekte dienten *Vicia faba*, *Solanum lycopersicum*, *Phaseolus vulgaris*, *Impatiens Holstii* und *Fuchsia Rose of Castille*, um Vertreter verschiedener Familien und Ordnungen zu prüfen. Mehrere Sprosse jeder Art von 7–20 g Gewicht wurden unter Wasser abgeschnitten und einige Minuten darin belassen, um sicher zu gehen, daß sich die Zugspannung in den Gefäßen ausgeglichen hatte und ein Verstopfen durch Luft verhindert wurde. Darauf wurden diese Sprosse im Gewächshaus in Meßzylinder bzw. Reagenzgläser mit 0,01%iger E 605 f-Brühe gestellt, deren Öffnung mit einem Zellstoffbausch verschlossen wurde (Abb. 32, 33).

Nach zwei Tagen hatten sie durchschnittlich das Doppelte ihres Eigengewichts an Brühe aufgenommen. Entsprechende Kontrollgläser ohne Sprosse erlitten keinen Flüssigkeitsverlust durch Verdampfen. Da weder das Lösungsmittel Wasser noch das Präparat vorzugsweise aufgenommen wurde, denn die Präparatkonzentration in der gebotenen Brühe blieb unverändert, konnte eine Wirksamkeit der Sproßteile erwartet werden, die der einer 0,02%igen Brühe entspricht. Eine deutlich geringere Wirksamkeit müßte dann auf eine Inaktivierung des Präparates in der Pflanze zurückzuführen sein, da eine nennenswerte Ausscheidung, wie bereits nachgewiesen, nicht in Frage kommt. Zur Prüfung auf ihren Präparatgehalt wurden die Sproßteile getrennt nach Stengel unten eingetauchter Teil (St. u. u.), Stengel unten nicht eingetauchter Teil (St. u.), Stengel Mitte



Abb. 32: *Vicia faba*-Sproß in E 605 f-Brühe.



Abb. 33:
Tomatensprosse in E 605 f-Brühe.

(St. m.), Stengel oben (St. o.), Blattlaminae der mittleren Blätter (B. m.) und der oberen (B. o.) als feiner Gewebsbrei mit Stubenfliegen getestet. Die so geprüften Arten und Einzelsprosse verhielten sich prinzipiell und graduell im Streubereich des Fliegentestes gleich, so daß es genügen mag, nur die bei einer Art (*Vicia faba*) ermittelten Werte in einem Blockdiagramm anzuführen.

Ergebnis: Aus dem Blockdiagramm (Abb. 34) geht hervor, daß gleich nach Aufnahme der Brühe keineswegs der ganze Sproß präparathaltig ist. Lediglich

die unteren Stengelteile zeigen die erwartete Wirksamkeit, während die Wirksamkeit des mittleren Stengelteils einem Zwanzigstel und die des oberen nur einem Hundertstel der aufgenommenen Präparatmenge entspricht. Sämtliche Blätter waren präparatfrei.

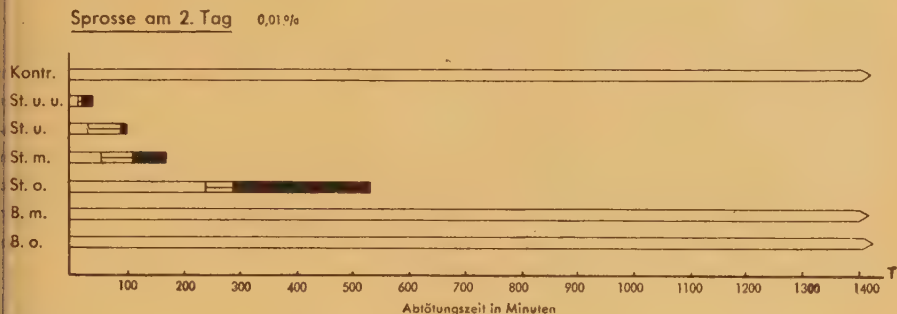


Abb. 34

Die restlichen Sprosse wurden nun, nachdem sie 48 Stunden lang die Brühe aufgenommen hatten, nach kurzem Abspülen des unteren Stengelteiles in reines Leitungswasser gestellt und nach sechs weiteren Tagen erneut geprüft. Das mittlere Ergebnis gibt Abbildung 35 wieder.

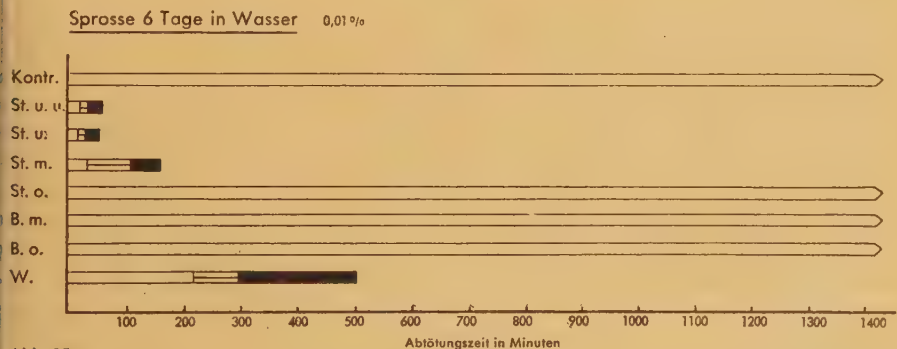


Abb. 35

Es zeigt sich also, daß in diesen sechs Tagen lediglich der obere Stengelteil seine schwache Wirksamkeit noch verloren hat, während die Präparatverteilung in den übrigen Sproßteilen unverändert blieb. Um einen eventuellen Präparatrückfluß aus dem Sproß nicht zu übersehen, wurde auch das Saugwasser (W) getestet. Es hat zwar eine kleine Menge aus dem Stengel herausgelöst, doch ist sie unbedeutend im Verhältnis zu der aufgenommenen Gesamtmenge, wie folgende Überlegung zeigt. 20 cm³ 0,01%ige E 605 f-Brühe wurden durchschnittlich aufgenommen. Das sind 2 mg E 605 f. Die E 605 f-Konzentration des Saugwassers läßt sich auf Grund der Abtötungszeit mit 0,0002 % errechnen. Das sind 0,04 mg E 605 f in 20 cm³ des restlichen Saugwassers. Also wurden von 100 Teilen aufgenommenen Präparates durchschnittlich nur zwei Teile wieder an das Saugwasser abgegeben.

Gerade in den Blättern müßte die größte Präparatmenge erwartet werden, da hier die Hauptmenge des aufgenommenen Wassers, nicht aber das E 605 transpiriert wird. Doch könnte man gegen die Inaktivierung von E 605 in den Blättern noch einwenden, daß das Präparat gar nicht in die Blätter gelangt sei und daß darin die Ursache für sein Nichtvorhandensein in den Blättern liege. Dieser Zweifel müßte sich aber beseitigen lassen, wenn das Präparat in einer Konzentration geboten würde, die eine so schnelle und restlose Inaktivierung unmöglich macht.

42. Versuchsreihe:

So wurden der vorigen Versuchsreihe entsprechend die Ansätze mit 1- und 0,1%iger E 605 f-Brühe durchgeführt. Hier zeigte sich, daß zwei Tage später sämtliche Sproßteile, die Blätter eingeschlossen, hochwirksam waren. Schon bei der 0,1%igen Konzentration trat diese Erscheinung sehr deutlich hervor, wie aus Abb. 36 hervorgeht.

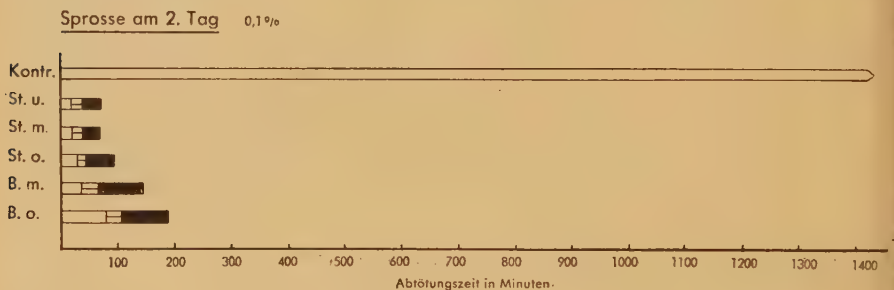


Abb. 36

Demnach gelangt das Präparat sehr wohl in alle Blätter, und es bleibt keine andere Deutungsmöglichkeit für die geschilderten Erscheinungen als die, daß das Präparat besonders in den Blättern inaktiviert wird. Dieser Prozeß muß mit großer Schnelligkeit ablaufen, da die mit 0,01%iger Brühe nachgesaugte Präparatmenge laufend restlos bewältigt wird. Der Stengel hatte auch nach 6 Tagen seinen Präparatgehalt noch nicht verloren. Da in dieser Zeit der Sproß weiter in unverminderter Stärke Wasser aufnahm, muß das Präparat in nicht durchströmten Teilen vermutet werden. Vielleicht ist auch der lipophile Stengelüberzug wesentlich bei dieser Festlegung beteiligt. Nach bloßen Spritzungen mit den Gebrauchskonzentrationen um 0,02 % sind jedoch keine derartigen Rückstände beobachtet worden.

2. Im etioliierten Sproß

43. Versuchsreihe:

Die Feststellung, daß die Inaktivierung von E 605 vorzugsweise in grünen Blättern vor sich geht, legte die Vermutung nahe, daß dieser Vorgang in enger Beziehung zum Assimilationsprozeß steht und gab Anlaß, die Bedeutung des Chlorophylls und des Lichtes für die Präparatinaktivierung zu prüfen. Dazu schien ein Objekt am besten geeignet zu sein, das normalerweise nachweislich zur Inaktivierung befähigt ist.

Methode: So wurden in einem völlig dunklen Kellerraum bei 17° C *Vicia faba*-Keimpflanzen gezogen, deren Sprosse nach Erreichen einer Länge von 15 bis 20 cm dicht über dem Wurzelhals abgeschnitten wurden. Diese etioliierten

Sprosse mit je zwei Primärblättern wurden anschließend in Reagenzgläser mit je 5 cm³ 0,01%iger E 605 f-Brühe gestellt. Ein Teil wurde ins Licht gebracht, die anderen verblieben im Dunkeln. Die ersteren ergrüntem sehr bald und saugten die Brühe restlos auf, die dann durch reines Leitungswasser ersetzt wurde. Die anderen blieben ohne Licht gelb und saugten innerhalb von 14 Tagen nur 1,5 bis 2 cm³ der Brühe auf. Nach dieser Zeit wurden sowohl die ergrüntem als auch die noch etiolierten Sprosse von ca. 2 g Gewicht auf Glasscheiben zerrieben und mit Fliegen auf ihren Präparatgehalt geprüft.

Ergebnis: Es zeigte sich, daß die ergrüntem Sprosse, die 5 cm³ Brühe aufgenommen hatten, nur in ihrem mittleren Stengelteil noch eine Spur von E 605 enthielten. (Der unterste Stengelteil, der äußerlich mit der Brühe in Berührung gekommen war, wurde beim Test nicht mit verwandt.) Die Fliegen starben innerhalb von 24 Stunden zu 60 %, was einer Konzentration von weniger als 0,0001 % entspricht. In den etiolierten Sprossen konnte von den aufgenommenen 1,5 bis 2 cm³ Brühe nichts mehr nachgewiesen werden.

Demnach ist die Präparatinaktivierung auch ohne Mithilfe aktiven Chlorophylls und ohne Licht möglich und daher vom Assimilationsprozeß unabhängig. Es waren jedoch noch weitere Versuche notwendig, um die Art und den Ort der Inaktivierung enger einzukreisen.

B. Die E 605-Inaktivierung in Abhängigkeit von der Wasserstoffionen-konzentration des Lösungsmittels

Es ist zwar bekannt, daß das Präparat für seine praktische Anwendung in ausreichendem Maße säure- und alkalibeständig ist, doch schien es notwendig, diese Resistenz noch unter Bedingungen zu prüfen, die die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration des Lösungsmittels für die Inaktivierung in der Pflanze klar erkennen lassen. Ferner mußte der eventuelle spezielle Einfluß der Pufferlösung auf den insektiziden Wirkungsgrad von E 605 f kontrolliert werden, mit der später Pflanzenpreßsäfte auf verschiedene Aziditätsstufen eingestellt werden sollten.

44. Versuchsreihe:

Methode: Als Puffergemisch wurde das von *Mc. Ilvaine* (*Kolthoff*, L. V. 12) angegebene gewählt. Es besteht aus 0,1 molarer Zitronensäure- und 0,2 molarer Dinatriumphosphat-Lösung in verschiedenen Mischungsverhältnissen und umfaßt den P_H -Bereich von 2,2 bis 8,0. Die Pufferlösung wurde mit ungefähren Intervallen von 0,5 auf P_H -Werte von 3—8 eingestellt und auf die Hälfte mit Leitungswasser verdünnt. Die einzelnen Ansätze wurden zu 79,2 cm³ in helle Flaschen von 100 cm³ Fassungsvermögen gefüllt und mit einem Zusatz von 0,8 cm³ 0,01%iger E 605 f-Brühe versehen, so daß das Präparat in allen Proben in 0,01%iger Verdünnung vorlag. Da die Pufferlösung ihre Leistungsgrenze bei P_H 8 hat, wurde die Einstellung höherer P_H -Werte durch Zugabe normaler Natronlauge vorgenommen. Daß dabei die ausgesprochene Pufferwirkung der Lösungen verloren ging, war in diesem hohen P_H -Bereich für unsere Zwecke ohne Belang. Ferner wurden folgende Proben zu Kontrollzwecken angesetzt: 0,01%ige E 605 f-Brühe ohne Pufferzusatz und je eine Probe reiner Pufferlösung ohne E 605 aus dem sauren, dem neutralen und dem alkalischen Bereich. Gleich im Anschluß an den Ansatz wurden die P_H -Werte gemessen.*) Die Aufbewahrung der offenen

*) Die P_H -Werte bis 9 wurden ionometrisch und über 9 mit „Bayer“-Indikatorpapieren zur Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration im Bereich von 0,1 bis 14,0 ermittelt.

Flaschen erfolgte bei Tageslicht und Zimmertemperatur. Ferner wurden die Proben täglich einige Male gut durchgeschüttelt und nach Tagen und Wochen wiederholt mit Fliegen auf ihre Wirksamkeit geprüft. Tabelle 5 gibt über die Ergebnisse Aufschluß.

Tabelle 5

Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf die insektizide Wirksamkeit von E 605 f in 0,01%igen Brühen

$T_{100\%}$ = Zeiten vom Aufsetzen der Fliegen auf die Proben bis zu ihrer 100%igen Lauf- und Flugunfähigkeit in Minuten (Abtötungszeit).

	Am 1. Tag		Nach	Nach		Nach		
	P _H	T _{100%}	1 Woche T _{100%}	2 Wochen T _{100%}	P _H	8 Wochen T _{100%}	P _H	
1	3,4	95'	62'	52'	3,6	53'	4,5	
2	3,9	110'	62'	65'	4,3	80'	5,6	
3	4,4	135'	60'	52'	4,8	49'	6,2	
4	5,0	110'	61'	56'	5,8	42'	7,2	
5	5,4	140'	65'	52'	6,4	80'	7,6	
6	6,1	125'	75'	57'	6,8	80'	8,0	
7	6,6	130'	73'	58'	7,1	90'	8,1	
8	7,2	130'	72'	60'	7,7	80'	8,1	
9	7,7	130'	70'	90'	8,0	55'	8,1	
10	8,2	115'	80'	70'	8,1	94'	8,2	
11	8,7	135'	100'	90'	7,7	60'	7,7	
12	9,4	110'	67'	66'	7,7	49'	7,6	
13	9,8	120'	73'	66'	7,9	80'	7,4	
14	10,0	125'	95'	70'	8,1	55'	7,9	
15	10	110'	57'	80'	8,5	60'	8,8	
16	10,5	100'	80'	80'	9,2	51'	9,0	
17	11	100'	90'	85'	9,4	45'	9,0	
18	11,5	150'	90'	200'	9,7	115'	9,1	
19	12	125'	115'	>24 Std.	10	>24 Std.	9,4	
Kontrollen								
20	E 605 f 0,01 % ohne Puffer		7,1	100'	105'	53'	65'	7,4
21	nur Pufferlösung ohne E 605	3,4	>12 Std.	>12 Std.	>24 Std.	>24 Std.	4,0	
22		8,2	>12 Std.	>12 Std.	>24 Std.	>24 Std.	8,2	
23		12	>12 Std.	>12 Std.	>24 Std.	>24 Std.	9,4	
24	Leitungswasser		>12 Std.	>12 Std.	>24 Std.	>24 Std.		

Ergebnis: Aus der Tabelle 5 geht hervor, daß die Azidität des Lösungsmittels in dem geprüften P_H -Bereich von 3 bis 12 zunächst ohne jeden Einfluß auf die insektizide Wirksamkeit des Präparates bleibt. Erst nach 14 Tagen wird bei den Proben eine partielle Inaktivierung deutlich, deren Ausgangs- P_H -Wert von größer als 11 in dieser Zeit nicht unter 9,5 gesunken ist. Eine mehr als 99%ige Inaktivierung tritt nach 14 Tagen auf, wenn der P_H -Wert von 12 nicht unter 10 sinkt. Diese Erscheinung konnte durch nachträgliches Neutralisieren oder Ansäuern nicht wieder rückgängig gemacht werden. Die Pufferlösung selbst blieb ohne jeden erkennbaren Einfluß auf die Fliegen. Die Aziditätsänderung der Brühen mit der Zeit muß ihren Grund in der Instabilität der Pufferlösung haben.

Demnach ist das Präparat den verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationen und den Bestandteilen der Pufferlösung gegenüber weitgehend unempfindlich. Die Inaktivierung des Präparates in der Pflanze kann daher mit den Aziditätsverhältnissen in den Geweben alleine nicht erklärt werden.

45. Versuchsreihe:

Bei den Proben der letzten Versuchsreihe war es aufgefallen, daß in den Brühen mit P_H -Wert >9 nach wenigen Tagen ein Bodenkörper ausfiel und ihre anfängliche Gelbfärbung allmählich wieder zurückging. Daher war es notwendig, die Proben vor Entnahme der 3 cm³ Testflüssigkeit gut zu schütteln. Bei einer getrennten Untersuchung des Bodenkörpers (b), der klaren oberen Flüssigkeit (a) und der geschüttelten Probe zeigte sich nach 2 Wochen bei einem Ausgangs- P_H -Wert von 10 und 10,5, daß ein Teil des insektiziden Bestandteiles ausgefallen war, ohne jedoch seine Wirksamkeit verloren zu haben (Tabelle 6).

Tabelle 6
Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf die Entmischung
von E 605 f-Brühen

$T_{100\%}$ = Zeiten vom Aufsetzen der Fliegen auf die Proben bis zu ihrer 100%igen Lauf- und Flugunfähigkeit in Minuten (Abtötungszeit).

	Am	Nach	Nach		Nach	
	1. Tag	1 Woche	2 Wochen		3 Wochen	
	P_H	$T_{100\%}$	$T_{100\%}$	P_H	$T_{100\%}$	P_H
1 geschüttelt	10	57'	80'	8,5	73'	8,6
1a klar	10	—	—	8,5	105'	8,6
2 geschüttelt	10,5	80'	80'	9,2	70'	8,8
2a klar	10,5	—	—	9,2	135'	8,8
3 geschüttelt	11	90'	85'	9,4	90'	9,0
4 geschüttelt	11,5	90'	200'	9,7	160'	9,3
4a klar	11,5	200'	—	9,7	—	9,3
4b Bodenkörper	11,5	50'	—	9,7	—	9,3
6 geschüttelt	12	115'	>24 Std.	10	>24 Std.	9,5
6a klar	12	600'	—	10	>24 Std.	9,5
6b Bodenkörper	12	48'	—	10	—	9,5
7 Leitungswasser	—	>24 Std.	>24 Std.	—	>24 Std.	—

Bei P_H 11 fand innerhalb von drei Wochen ebenfalls keine Inaktivierung statt. Bei P_H 11,5 war nach einer Woche ein großer Teil des wirksamen Bestandteiles ausgefallen. Doch seine Wirksamkeit blieb zunächst unvermindert und nahm erst nach weiteren 7 Tagen ab. Nach 3 Wochen hatte offenbar wegen des mittlerweile auf 9,3 gesunkenen P_H -Wertes keine weitere Inaktivierung stattgefunden. Auch bei P_H 12 fiel nach einer Woche lediglich die Ausfällung des Präparates auf, das erst nach zwei bis drei Wochen praktisch unwirksam wurde. Ausgefällt wird sowohl das reine E 605, als auch der Emulgator, wie Versuche ergaben, bei denen mit diesen beiden Substanzen getrennt gearbeitet wurde.

Zusammenfassend läßt sich also sagen, daß das Präparat nur in stark alkalischen Medien einer sich über Tage und Wochen hinziehenden Ausfällung und einer ganz allmählichen Beeinträchtigung der insektiziden Wirksamkeit unterliegt. Für die Praxis sind diese schleichend verlaufenden Prozesse jedoch ohne jeden Belang.

X.

Die Bedeutung der Pflanzenfermente für die E 605-Inaktivierung

Der weitgehenden Beständigkeit des Präparates auf totem Untergrund steht die zeitlich eng begrenzte Wirksamkeit auf der grünen Pflanze gegenüber. Es konnte nachgewiesen werden, daß das Präparat in die Pflanze eindringt und im Innern der Blätter inaktiviert werden kann. Diese Inaktivierung kann auf Grund der Aziditätsverhältnisse in der Pflanze nicht mit einer Verseifung durch Alkali erklärt werden. Ebenfalls reicht die Basizität der Blattausscheidungen nicht aus, um das schnelle Nachlassen der Wirksamkeit des Präparates auf der Blattoberfläche auf diese Weise verständlich zu machen. *Arens* (L. V. 1, S. 255—264), der sich eingehend mit der Reaktion der Blattausscheidungen befaßt hat, fand dabei keinen P_H -Wert über 9,2. Die meisten lagen erheblich tiefer. Es liegt nun nahe, eine Beteiligung der Pflanzenfermente bei der Inaktivierung zu vermuten, die im folgenden geprüft werden soll.

A. Die Beständigkeit von E 605 f auf lebenden und durch Fermentgifte abgetöteten Blättern

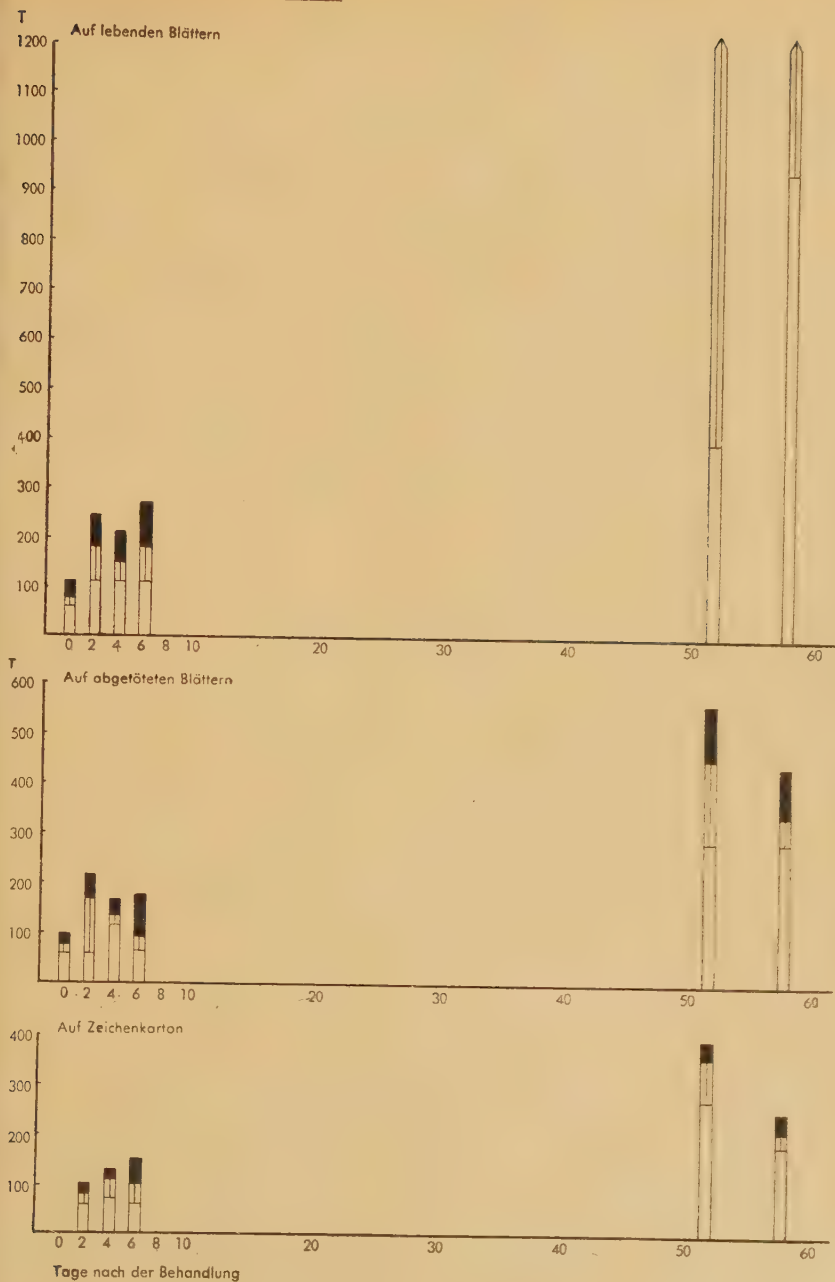
Zunächst interessierte es, ob die Wirksamkeit der Oberfläche behandelter Blätter ebenso schnell nachläßt, wenn die Fermente ausgeschaltet sind. Eine Fermentzerstörung durch Hitze schien hier unangebracht, da dabei strukturelle Veränderungen des Gewebes nicht zu vermeiden sind. Formalin und Ammoniak zerstören wohl die Fermente und töten das Plasma, lassen aber die Formelemente des Gewebes weitgehend unbeeinflußt.

46. Versuchsreihe:

Methode: Als Versuchsobjekt dienten gleichartige Blätter von *Phaseolus vulgaris*, die vor Beginn der Blüte mit 0,1%igem E 605 f bepinselt wurden.

1. wurden die an der Pflanze verbleibenden Blätter behandelt,
2. wurden Blätter von der Pflanze entfernt, deren Stiele mit Paraffin verschlossen, behandelt und auf feuchtes Filterpapier mit Glasscheiben als Unterlage ausgebreitet,
3. wurden abgetrennte Blätter zunächst zum Zwecke der Abtötung unter eine Glasglocke mit dem Stiel in 30%iges Formalin gestellt bzw. dem Gas von

Wirksamkeit 0,1%iger E 605 F-Brühe



konzentriertem Ammoniakwasser ausgesetzt. Die erschlafften, abgetöteten Blätter wurden nach einigen Stunden sorgfältig auf Glasscheiben, die mit feuchtem Filterpapier bedeckt waren, ausgebreitet und behandelt, ohne daß das Präparat mit dem Filterpapier in Berührung kam,

4. wurde glatter Zeichenkarton zu Vergleichszwecken entsprechend behandelt.

Das Filterpapier, auf dem die abgetrennten Blätter ausgebreitet waren, wurde von Zeit zu Zeit angefeuchtet, um den Feuchtigkeitsgrad der toten Blätter dem der lebenden an der Pflanze anzupassen. — Beim Fliegentest wurden die lebenden Blätter an der Pflanze wie die toten auf Glasscheiben mit feuchtem Filterpapier gelegt. Pflanzen, Blätter und Zeichenkarton wurden im Laboratorium bei 15 bis 20° C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 30 bis 50 % gehalten.

Ergebnis: Wie aus Abb. 37 hervorgeht, verliert der behandelte Zeichenkarton innerhalb von 58 Tagen kaum von seiner Wirksamkeit. Auch auf den chemisch abgetöteten Blättern läßt in dieser Zeit die Wirksamkeit nur in geringem Maße nach. Dagegen inaktivieren die lebenden Blätter das Präparat mit der Zeit nahezu restlos. Die abgetrennten Blätter ohne Formalin- bzw. Ammoniakbehandlung nahmen, da ihre Fermente zunächst bis zum physiologischen Tod der Blätter aktiv blieben, eine Zwischenstellung ein. Sie bewirken am 52. Tag nach 17 Stunden eine 100%ige Abtötung der Testfliegen und am 58. Tag wurde innerhalb 24 Stunden eine 80%ige Abtötung der Fliegen erreicht.

Auswertung der Ergebnisse:

Die Ergebnisse zeigen, daß nicht einfache chemisch-physikalische Eigenschaften des behandelten Materials die Ursache für die geringe Residual-Wirkung des Präparates auf der grünen Pflanze sein können, denn tote Blätter verhalten sich in ihrer Wirksamkeit dem Zeichenkarton ähnlicher als lebende Blätter an der Pflanze. Da bereits erkannt wurde, daß kein Rückfluß des Präparates in den Sproßstengel in Frage kommt und Ammoniak und Formalin als typische Ferment- und Plasmagifte das Unwirksamwerden des Präparates verhinderten, ergibt sich aus diesem Versuch ein deutlicher Hinweis für die Bedeutung von Fermenten und Plasma für die E 605-Inaktivierung.

B. Der Einfluß von Pflanzenpreßsäften auf das Präparat

Da nach den vorangegangenen Versuchen die große Wahrscheinlichkeit besteht, daß in gewissen Fermenten die Ursache für die E 605-Inaktivierung in der Pflanze zu suchen ist, wurden von Versuchen mit Pflanzenpreßsäften weitere aufschlußreiche Ergebnisse erwartet.

1. Preßsäfte von natürlicher Azidität

47. Versuchsreihe:

Methode: Der Einfachheit halber wurden zunächst grüne Blätter von *Brassica oleracea sabauda* L. (Wirsing), *Brassica oleracea capitata* L. (Weißkohl) und *Beta altissima* (Zuckerrübe) mit einer Fruchtpresse zu Preßsaft verarbeitet, der mittels eines Drahtsiebes von 0,5 mm Maschenweite von groben Teilchen befreit wurde. Eine Hälfte des Saftes wurde zum Zwecke der Fermentzerstörung kurz bis zum Sieden erhitzt und anschließend erneut durch das Sieb gegossen, um die durch Koagulation des Eiweißes entstandenen Gerinnsel zu entfernen. Nach Erkalten des denaturierten Preßsaftes wurde diesem, wie dem natürlichen E 605 f in den Mengen zugegeben, daß die einzelnen Proben 0,1, 0,01 und 0,001 % enthielten. Zu Kontrollzwecken wurden

auch Proben ohne Präparat und wässrige Brühen von E 605 f in entsprechenden Konzentrationen angesetzt. Sie wurden in Flaschen mit einem Zellstoffbausch verschlossen bei Tageslicht und Zimmertemperatur aufbewahrt. Die Proben wurden nach Tagen und Wochen wiederholt im Fliegentest auf ihre Wirksamkeit geprüft.

Ergebnis: Es zeigte sich nichts von Bedeutung. Die Proben behielten nahezu ihre volle Wirksamkeit. Kleine Abweichungen konnten durch die Absorption des Präparates durch die suspendierten Teilchen der Säfte erklärt werden.

2. Preßsäfte mit Zusatz von Pufferlösung

Das negative Ergebnis der letzten Versuchsreihe ist nicht überraschend, da fermentative Prozesse, die hier untersucht werden sollen, alle mehr oder weniger stark von der Wasserstoffionenkonzentration der Medien abhängig sind, in denen sie ablaufen sollen. Die Pflanze vereinigt in sich aber zahlreiche verschiedene P_H -Bereiche. So unterscheiden sich in ihrer aktuellen Azidität nicht nur der Sproß, die Früchte und die Wurzeln, sondern auch die einzelnen Gewebe, wie Epidermis, Mesophyll, Haare, Rinde, Phloem, Xylem, Kambium, Mark usw. Auch die einzelne Zelle ist in dieser Hinsicht nicht einheitlich. So liegt der P_H -Wert des Plasmas fast stets höher als der des Zellsaftes.

Unter Berücksichtigung dieser Verhältnisse konnten die Ergebnisse der bisherigen Preßsaftversuche natürlich keine endgültigen sein.

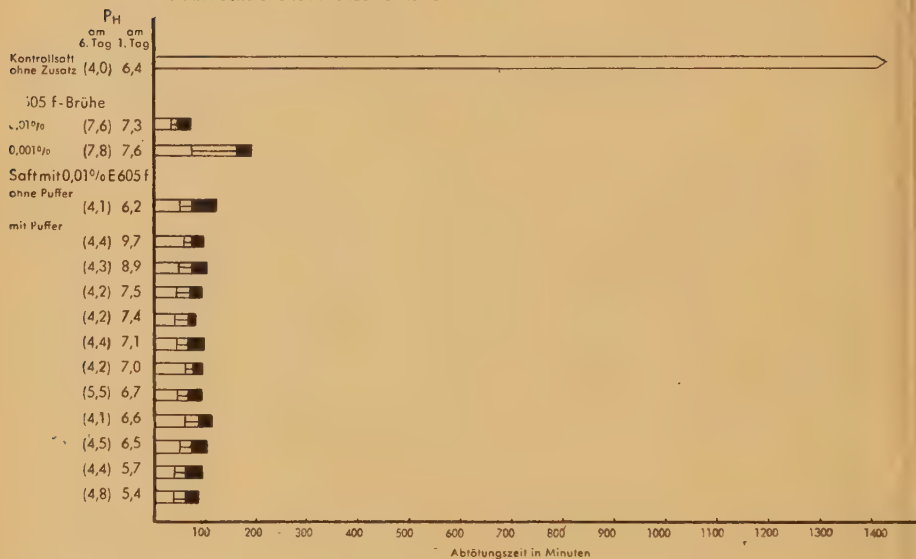
48. Versuchsreihe:

Methode: Es wurden erneut zu verschiedenen Zeitpunkten Preßsäfte aus Sprossen von *Vicia faba* L. (Pferdebohne) in entsprechender Weise, wie vorher geschildert, hergestellt. Die aktuelle Azidität des Saftes war bei den einzelnen Ansätzen nur annähernd gleich, da sich die Pflanzen jeweils nach Alter, Herkunft und Ernährungszustand unterschieden. Die P_H -Messung erfolgte in der üblichen Weise ionometrisch und oberhalb von P_H 9 mit dem angegebenen Indikatorpapier. Die Werte der Säfte lagen bei P_H 6,3, 6,4, 6,5, 6,5 und 6,8, im Mittel also bei 6,5. Das kurze Erhitzen zum Zwecke der Fermentzerstörung in der einen Hälfte der Saftmenge hatte keinen nennenswerten Einfluß auf den P_H -Wert. Nun werden jeweils 60 cm³ des Saftes in helle Flaschen von 100 cm³ Fassungsvermögen gefüllt und mit 20 cm³ Zitronensäure-Dinatriumphosphat-Pufferlösung nach *Mc. Ilvaine* (*Kolthoff* L. V. 12) versetzt, um die Proben auf bestimmte P_H -Werte einzustellen, mit denen in den natürlichen Geweben gerechnet werden mußte. Das Mischungsverhältnis 3:1 von Saft und Pufferlösung war wegen der starken Eigenpufferung des Saftes erforderlich. Die gewünschten Wasserstoffionenkonzentrationen wurden durch Variieren der Mengenverhältnisse von Zitronensäure und Dinatriumphosphat in der Pufferlösung erreicht. Beim Ansatz fand wegen möglicher Fermentschädigungen durch Kupfer nur über Glas doppelt destilliertes Wasser Verwendung. Da die genannte Pufferlösung ihre Leistungsgrenze bei P_H 8 hat, wurde die Einstellung höherer P_H -Werte durch Zugabe normaler Natronlauge vorgenommen. Dann wurden den Proben 0,8 cm³ 1%ige E 605 f-Brühe zugesetzt, daß sie 0,01 % Präparat enthielten. Nun erfolgte die P_H -Bestimmung. — Zu Kontrollzwecken blieben einige Proben ohne jeden Zusatz. Einigen anderen wurde nur E 605 f, aber keine Pufferlösung zugesetzt. Ebenfalls wurden in die Versuchsreihen wässrige E 605 f-Brühen von 0,01 und 0,001 % Präparatgehalt aufgenommen, die zu gleicher Zeit angesetzt wurden. Die Aufbewahrung der unverschlossenen Flaschen erfolgte zum Teil bei Tageslicht und Zimmertemperatur

Pflanzenpreßsaft mit Puffer und E 605 f-Zusatz bei 35° C

Am 6. Tag nach Ansatz mit Fliegen geleset

Soft mit denaturierten Pflanzenfermenten



Soft mit natürlichen Pflanzenfermenten

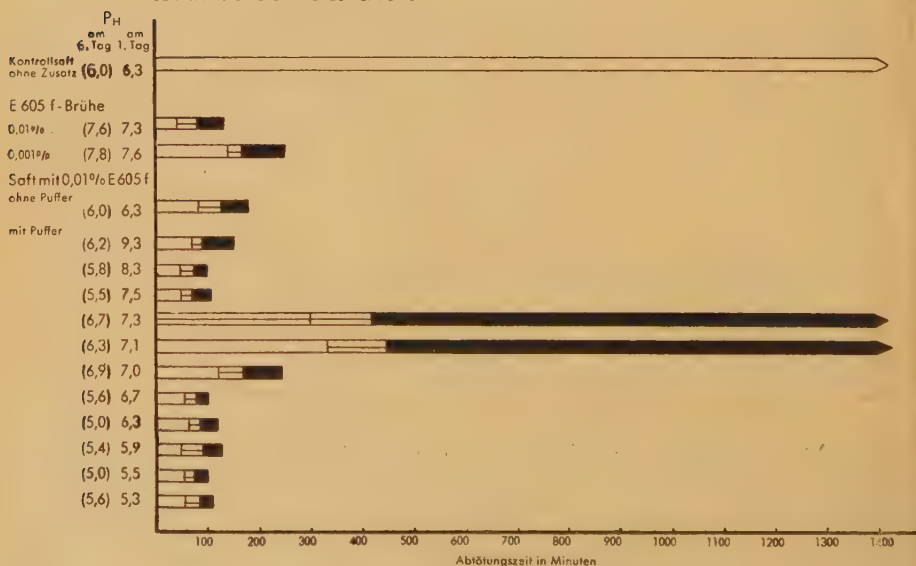


Abb. 38

und zum Teil im dunklen Thermostaten bei 35° C. Nach Tagen fanden in Abständen Überprüfungen der insektiziden Wirksamkeit der Proben mit Stubenfliegen statt. Fünf Versuchsreihen dieser Art wurden durchgeführt. Sie lieferten stets völlig gleichsinnige Ergebnisse. Darum mag es genügen, nur von einer die Ergebnisse in einem Blockdiagramm (Abb. 38) wiederzugeben.

Ergebnis: Bei Betrachtung der Abbildung 38 fällt auf, daß am 6. Tag bei den nicht erhitzten Proben die meisten Werte für die Abtötungszeit ($T_{100\%}$) der Fliegen zwischen 95 und 130 Minuten liegen, in einer Spanne also, die im Bereich der normalen Streuung des Fliegentestes liegt. Bei P_H 7,0, 7,1 und 7,3, in anderen Versuchen auch bei 7,2, 7,4 und 7,5 als Ausgangs- P_H -Wert, ist jedoch die Abtötungszeit der Testfliegen, mit einem Maximum bei P_H 7,2 und 7,3, erheblich vergrößert. Bei den erhitzten und daher von aktionsfähigen Fermenten freien Proben zeigten sich in dem gesamten P_H -Bereich von 5,0 bis 9,0 keine derartigen Erscheinungen. Auch oberhalb von P_H 9,0 wurden Verzögerungen in der Abtötung der Testfliegen deutlich, und zwar diesmal sowohl bei den nicht erhitzten als auch bei den erhitzten. Diese Erscheinungen können nur auf eine Inaktivierung des Präparates zurückgeführt werden. Da im P_H -Bereich von 7,0 bis 7,5 nur die nicht erhitzten Proben die Inaktivierung zeigen, muß auf eine Fermentwirkung geschlossen werden, während oberhalb von P_H 9 die Basizität des Mediums als verursachendes Prinzip angesehen werden muß. Ein Temperatureinfluß war nur insoweit festzustellen, als es bei Zimmertemperatur zwei- bis dreimal länger dauerte, bis unter den Proben ein Unterschied der insektiziden Wirksamkeit auftrat. Ferner wurden nach Tagen die Proben im Thermostaten durchweg saurer, während sie bei Zimmertemperatur in den unteren und mittleren P_H -Bereichen alkalischer wurden. Die Inaktivierung fand auch bei völliger Dunkelheit im Thermostaten statt.

Wie aus der 41. Versuchsreihe hervorgeht, vollzieht sich die Inaktivierung in den lebenden Blättern an der Pflanze wesentlich schneller, und zwar restlos in dem Maße, wie die 0,01%ige Brühe vom Sproß nachgesaugt wird. Es kann ja auch nicht erwartet werden, daß sich in Preßsäften die Vorgänge, die in der lebenden Zelle ablaufen, vollständig reproduzieren lassen. Bei einigen anderen Pflanzenarten war die Präparat-Inaktivierung in den Preßsäften sogar so gering, daß sie keinen eindeutigen Schluß zuließ, obwohl die intakten Sprosse das Präparat sehr schnell unwirksam machten.

3. Preßsäfte mit Zusatz von Pufferlösung und eines Desinfiziens

Wenn man nach diesen Ergebnissen schon annehmen will, daß pflanzliche Fermente in der Lage sind, E 605 zu inaktivieren, darf man natürlich nicht außer acht lassen, daß die nicht sterilen Proben auch von zahlreichen Bakterienstämmen besiedelt sind, die ihrerseits Fermente produzieren, die möglicherweise das E 605-Molekül ebenso angreifen, wie es die pflanzlichen Fermente tun. Für Bakterientätigkeit in den Proben spricht neben der Bildung übler Geruchsstoffe auch die Tatsache, daß die Richtung der P_H -Änderung temperaturabhängig ist. Bei 35° C werden andere Bakterienstämme ihr Temperaturoptimum finden als bei Zimmertemperatur. Die sich jeweils optimal entwickelnden Stämme werden dann dafür ausschlaggebend sein, ob die Proben saurer oder alkalischer werden. Zweifellos kann auch ein steriler fermentativer Prozeß die Azidität des Mediums beeinflussen, doch dürfte dabei die Richtung der Änderung, ob zum sauren oder alkalischen Bereich, bei Temperaturen von 18 bis 35° C gleich sein.

Nun galt es, Preßsaftproben möglichst steril zu halten, um die Bakterientätigkeit einzudämmen. Eine allgemeine Sterilisierung durch Erhitzen mußte von vornherein ausscheiden, da dadurch die Pflanzenfermente zerstört werden. Die meisten chemischen Sterilisationsmittel sind Fermentgifte. Diejenigen ohne nennenswerten Einfluß auf die Fermentaktivität wie Aceton, Äthyläther, Chloroform, Schwefelkohlenstoff usw., wie *Schweizer* (L. V. 21) sie in seiner Einführung in die Kaltsterilisationsmethode angibt, waren für unsere Zwecke ebenfalls ungeeignet. Da sie in Wasser bzw. wässrigen Preßsäften nicht löslich sind, bilden sie in den Säften Tropfen, die auf Grund ihres lipophilen Charakters das E 605 aus den Säften herauslösen, in sich sammeln und somit der Beeinflussung durch Fermente entziehen. Ferner darf auch das Desinfiziens, wenn es geeignet sein soll, kein Fliegengift sein, um den Test nicht unmöglich zu machen. Nach Prüfung mehrerer Substanzen zeigte sich, daß Thymol, das selbst in Pflanzen vorkommt und in ausreichendem Maße die Bakterienentwicklung hemmt, allen genannten Anforderungen genügt.

49. Versuchsreihe:

Methode: Nun wurden wie in der vorigen Versuchsreihe erneut *Vicia faba*-Preßsaftproben angesetzt und mit einem senfkorngroßen Kristall Thymol versetzt. Das Ergebnis des Fliegentestes am 8. Tag nach dem Ansatz gibt Abbildung 39 wieder.

Ergebnis: Schon der Test am 4. Tag ergab, wenn auch noch nicht in so stark ausgeprägtem Maße, sinngemäß das gleiche Ergebnis in deutlicher Form. — Neben der Bestätigung der vorigen Versuchsreihe zeigt sich hier, daß bei P_H 7,0 bis 7,5 die Inaktivierung von E 605 im rohen Preßsaft auch dann vor sich geht, wenn die Bakterienentwicklung stark gehemmt wird. Daß die weitgehende Ausschaltung der Bakterien gelungen war, wurde auch durch das Ausbleiben übler Geruchsstoffe deutlich. — Daher kann diese Inaktivierung nur auf pflanzeigene Fermente zurückgeführt werden.

Es handelt sich dabei um Fermente, die nur im P_H -Bereich von 7,0 bis 7,5 aktionsfähig sind und bei P_H 7,2 und 7,3 ihr Aktionsoptimum haben. Vielleicht ist auch nur ein einzelnes Ferment der E 605-Inaktivierung fähig, da sie auf einen derartig kleinen P_H -Bereich beschränkt ist. Als Ort der Inaktivierung scheidet der Zellsaft wegen seiner gewöhnlich deutlich sauren Reaktion mit einem P_H von 2,8 bis 6 (vergl. *Kiesel* L. V. 11, S. 61) von vornherein aus. Das Zytoplasma dagegen reagiert in der Regel nach den meisten Literaturangaben neutral oder schwach alkalisch, wobei eine Basizität bis zu P_H 7,8 gefunden wurde. *Kiesel* (L. V. 11, S. 53 ff.) weist an Hand zahlreicher Literaturstellen nach, daß sich diese Vorstellung über die Reaktion des Zellsaftes und des Zytoplasmas bis auf die neuere Zeit fast immer hat bestätigen lassen, wiewohl die Methoden des Nachweises sehr verschieden waren und allmählich vervollkommen wurden.

Als Ort der Inaktivierung von E 605 in der Pflanze muß demnach auf Grund der Aziditätsverhältnisse das Zytoplasma angesehen werden.

XI.

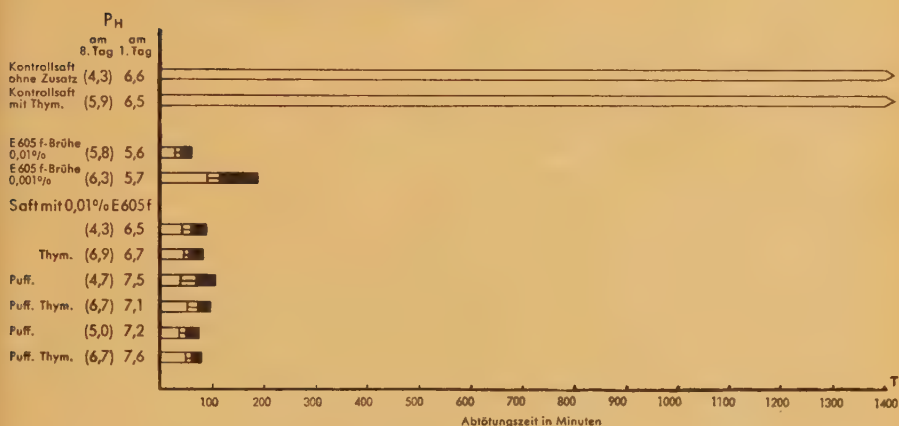
Zur Frage der Präparat-Inaktivierung durch Mikroorganismen

Bei den zahlreichen Versuchen mit Preßsäften von Früchten, Knollen und vollständigen Sprossen der verschiedensten Angiospermen war es aufgefallen, daß die mit E 605 f versetzten Proben noch Wochen, nachdem sie stark in Fäulnis

Pflanzenpreßsaft mit Puffer- (Puff.), E 605 f- und Thymol (Thym.)-Zusatz

Am 8. Tag nach Ansatz mit Fliegen getestet

Saft mit denaturierten Pflanzenfermenten



Saft mit natürlichen Pflanzenfermenten

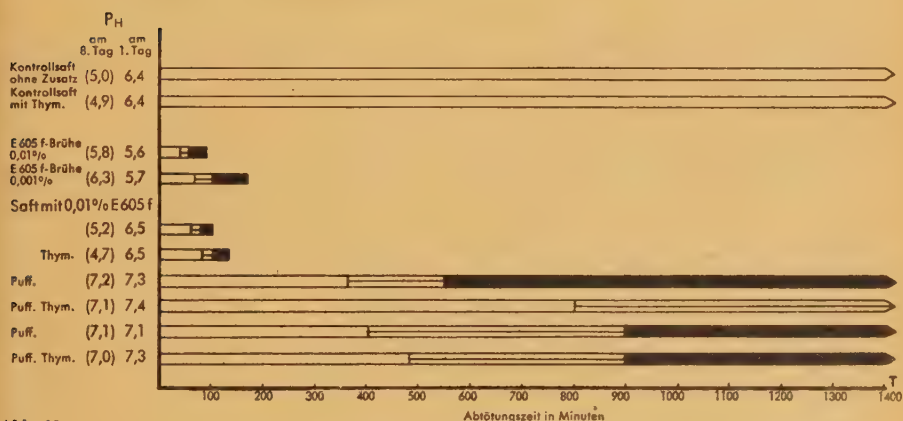


Abb. 39

übergangen waren, unter den verschiedensten Aziditätsverhältnissen insektizid unwirksam geworden waren. Auch die aufgekochten und von aktionsfähigen pflanzeigenen Fermenten freien Proben blieben davon nicht immer unbeeinträchtigt. Mit den bisher erkannten Inaktivierungs- und Absorptionsmöglichkeiten konnte diese Erscheinung nicht erklärt werden. Es lag vielmehr nahe, die Fäulnisbakterien damit in ursächlichen Zusammenhang zu bringen. Diese postulierte Ansicht sollte nun eingehender geprüft werden.

Abbildung 40 ist die Fortsetzung der Abb. 38 aus der 48. Versuchsreihe. Bei den in ihr zugrunde liegenden Testen wurden die gleichen bei 35° C im Thermostaten aufbewahrten Preßsaftproben ohne Thymolzusatz wie vorher verwandt, nur zu einem späteren Zeitpunkt. Es zeigte sich schon sehr deutlich am 21. Tag

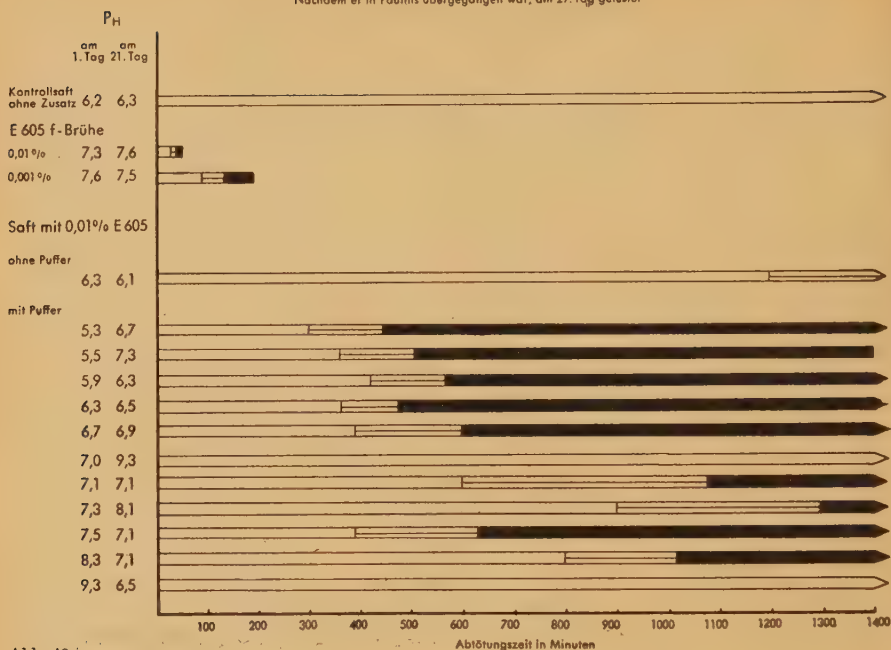


Abb. 40

und noch eindrucksvoller am 29. Tag nach Ansatz der Proben, daß nahezu unabhängig von der Azidität eine nachträgliche starke, in mehreren Proben vollständige Inaktivierung von E 605 stattgefunden hatte, die im Folgenden „Spätinaktivierung“ genannt werden soll. Alle Preßsaftproben enthielten nur noch weit weniger als 1 Gamma pro Gramm Saft. Die Wirkung pflanzeigener Fermente sowie die Alkaliwirkung können dafür nicht in Frage kommen, weil dazu bestimmte P_H -Werte die nötige Voraussetzung sind, die hier, wie die P_H -Messung am 21. Tag zeigt, in den meisten Proben nicht gegeben ist.

50. Versuchsreihe:

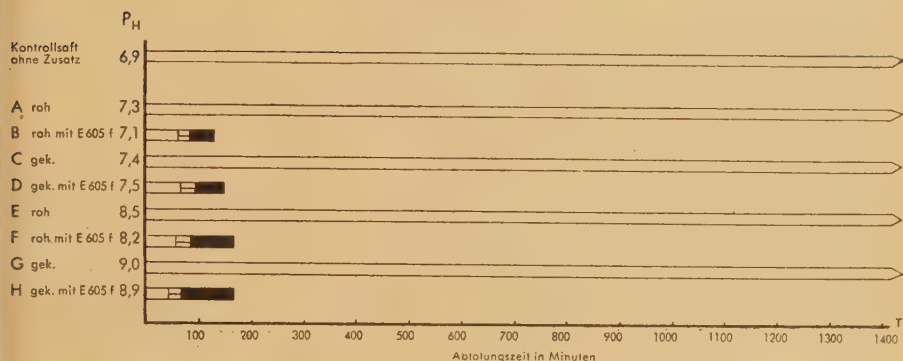
Um den ursächlichen Zusammenhang dieser Spätinaktivierung zu klären, sollte die offenbar neu erworbene Inaktivierungsfähigkeit der alten Proben durch erneuten Zusatz von E 605 f untersucht werden.

Methode: Einige Proben rohen Preßsaftes der 48. Versuchsreihe von nahezu gleicher Azidität, bei denen die Inaktivierung nach 29 Tagen praktisch vollständig war, wurden zusammengegossen, und zwar 1. die mit P_H 7,0 bis 7,5 (Abb. 41, A—D) und 2. die mit P_H 8,0 bis 9,3 (Abb. 41, E—H). Von diesen beiden neuen Proben wurde jeweils die halbe Menge zur Fermentzerstörung kurz aufgeköcht, so daß nun vier verschiedene Proben vorlagen. Diese wurden wiederum halbiert, daß zwei gleichwertige Serien von je vier Einzelproben zur Verfügung standen. Der einen der beiden Serien wurde nun E 605 f in der Menge zugesetzt, daß sie davon 0,01 % enthielt (Abb. 41, B, D, F, H). Die Proben A, C, E, G blieben ohne erneuten Zusatz. Aus Abb. 41 geht hervor, daß die vier Proben (B, D, F, H) mit erneutem

Pflanzenpreßsaft mit erneutem E 605 f-Zusatz (0,01 %)

Nach Inaktivierung des ersten Zusatzes

4 Stunden nach erneutem Ansatz



24 Stunden nach erneutem Ansatz

+ stärke Inaktivierung - keine Inaktivierung

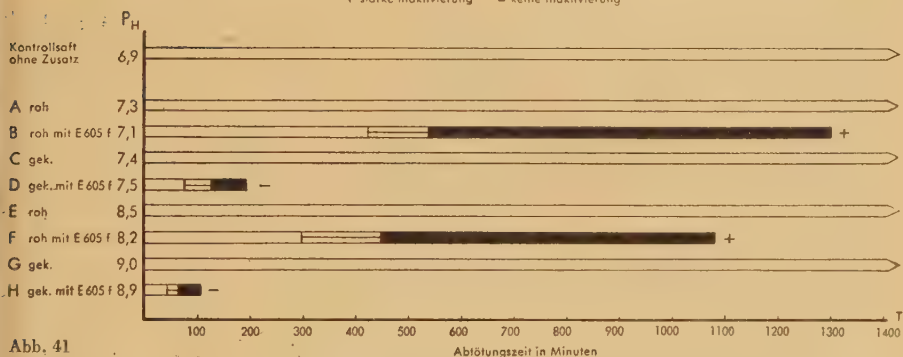


Abb. 41

E 605 f-Zusatz gleich nach Ansatz alle ziemlich gleich wirksam waren. Doch schon am nächsten Tag war das Bild erheblich verschoben. Die aufgekochten Proben (D und H) mit zerstörten Fermenten enthielten das Präparat praktisch noch in voller Wirksamkeit, während die rohen Proben (B und F) bereits ganz erheblich weniger wirksam waren als am Vortage. Dem kann wiederum nur ein fermentativer Prozeß zugrunde liegen, und zwar sowohl bei P_H 7,1 als auch bei P_H 8,2. Die Inaktivierung wurde bereits nach 24 Stunden so deutlich, wie durch pflanze-eigene Fermente erst nach 6 Tagen. Also muß hier der Fermentgehalt erheblich größer gewesen sein oder die Fermente waren aktionsfähiger. Daraus ist zu schließen, daß hier pflanze-eigene Fermente nicht das entscheidende Prinzip darstellten, zumal auch eine Inaktivierung bei P_H 8,2 sattgefunden hat.

Es scheint daher folgende Deutung den gegebenen Verhältnissen am ehesten gerecht zu werden: In den Proben haben sich zahlreiche Bakterienstämme angesiedelt, die jeweils der gegebenen Azidität des Substrates angepaßt sind. Damit sind auch ihre Fermente in den betreffenden P_H -Bereichen aktionsfähig und so

auch das Ferment (oder deren mehrere verschiedene), das das E 605-Molekül zu inaktivieren vermag. Also macht eine bestimmte Wasserstoffionenkonzentration unterhalb von P_H 9 das E 605-Molekül nicht etwa instabiler und schafft so die Voraussetzung für eine fermentative Beeinflussung, sondern das Präparat ist durch geeignete Fermente in allen P_H -Bereichen angreifbar, die diesen zuträglich sind. Demnach werden vermutlich zahlreiche Fermente verschiedener Bakterien und nur ein *Vicia-faba*-Ferment (wegen der kleinen Aktionsspanne von P_H 7,0 bis 7,5) in der Lage sein, das E 605-Molekül zu inaktivieren, d. h. wahrscheinlich in ungiftige Bruchstücke zu zerlegen.

Die Spätinaktivierung trat bei Proben, die beim Ansatz kurz aufgekocht worden waren, nur vereinzelt und weniger stark in Erscheinung. Vermutlich fand hier keine neue Besiedelung durch geeignete Bakterien statt, oder aber das Substrat war nach Absieben der Eiweißgerinnsel für die betreffenden Bakterien nicht mehr vollwertig. Eine weitere Deutungsmöglichkeit für die letztgenannte Erscheinung würde die Chondriosomen-Theorie von *Schanderl* (L. V. 18) bieten. Danach wäre denkbar, daß sowohl für die Inaktivierung des Präparates im lebenden Zytoplasma als auch für die Spätinaktivierung in faulenden Preßsaftproben entsprechende Formen von Chondriosomen die Ursache sind. Dann wäre es verständlich, daß nach kurzem Aufkochen des Preßsaftes diese Zytoplasmaeinschlüsse mehr oder weniger vollständig abgetötet werden und daher die Spätinaktivierung nicht mehr möglich ist. Aus ungekochtem Preßsaft könnten dagegen lebende Chondriosomen beim Faulen des Plasmas frei werden und die Spätinaktivierung verursachen. Dagegen spricht allerdings die weitgehende Unabhängigkeit der Spätinaktivierung von der Substratazidität.

So soll zunächst daran festgehalten werden, daß das Präparat sowohl von Fermenten des Zytoplasmas als auch von Bakterien inaktiviert werden kann. Die Bedeutung der Chondriosomen für diesen Vorgang muß zunächst dahingestellt bleiben.

XII.

Besprechung der Ergebnisse

Im Folgenden sollen die Ergebnisse der Untersuchungen über das Verhalten von E 605 f auf und in der Pflanze einer kritischen Betrachtung unterzogen werden und der Vorstellung zu dieser Frage Ausdruck gegeben werden, die nach unserer Ansicht die größte Wahrscheinlichkeit für sich hat. — Da über das Verhalten pflanzenfremder organischer Verbindungen in der Pflanze bisher nur sehr wenig bekannt ist, mögen die gewonnenen Erkenntnisse als Beispiele zu dieser Frage von Bedeutung sein.

Nach den vorliegenden Ergebnissen besteht kein Zweifel, daß das Präparat von der Wurzel aufgenommen wird, doch nicht in der Konzentration, in der es zur Aufnahme geboten wird, wie es bei abgeschnittenen Sprossen der Fall ist, sondern in viel geringeren Mengen. Daraus wird geschlossen, daß es wegen seiner elektrischen Indifferenz nicht wie Nährsalzionen aktiv aufgenommen wird, sondern daß die Wurzel nur nicht verhindern kann, daß sie von dem Präparat durchdrungen wird. Alle Beobachtungen sprechen dafür, daß es sich bei der Ausbreitung des Präparates in pflanzlichem Gewebe um einen reinen Diffusionsvorgang handelt. Ob das Präparat dabei lediglich durch die Zellmembranen der Wurzelgewebe in die Holzgefäße gelangt oder auch durch das Zytoplasma und den Zellsaft, ist noch unentschieden, da noch nicht einwandfrei feststeht, ob es auch schon

im Zytoplasma der Wurzel inaktiviert werden kann. In den Holzgefäßen der Wurzel angelangt, wird es offenbar von dem anorganischen Saftstrom sehr schnell in den Sproß gebracht. Durch die passiven Hydátoden krautiger Pflanzen wird durch Wurzeldruck der anorganische Saft der Gefäße unter einer gewissen Elek-tion verschiedener gelöster Stoffe ausgepreßt. Damit wird das Erscheinen eines Teils der aufgenommenen Präparatmengen in der Guttationsflüssigkeit verständlich. Der andere Teil wird höchstwahrscheinlich mit dem Transpirationsstrom in das Blattgewebe gebracht und dort fermentativ inaktiviert.

Von den Blättern ist bekannt, daß sie in der Lage sind, mit Hilfe von Haaren und farblosen Parenchymzellen in der Nähe der Nerven tropfbar flüssiges Wasser und darin gelöste Stoffe mit Molekülen der Größenordnung von E 605 aufzunehmen. Das wäre auch für E 605 ein Weg, in die Leitbündel zu gelangen. Darüber hinaus konnte festgestellt werden, daß die lipophilen Epidermisüberzüge der Blätter für das flüssige lipoidlösliche Präparat kein Hindernis bedeuten. Im Mesophyll vermag sich das Präparat auf Grund seiner noch beachtlichen Wasserlöslichkeit durch Diffusion auszubreiten und in die Gefäße zu gelangen. Durch Diffusion ist aber eine Ausbreitung auf weitere Entfernungen, wegen der geringen Geschwindigkeit dieses Vorganges, undenkbar. Für den Ferntransport kommen nur die Holzgefäße in Frage, durch die das Präparat an die Stellen stärkster Transpiration, nämlich in die Blätter gebracht wird, wo es innerhalb kurzer Zeit restlos zerstört wird.

E 605 wird in den Blättern aller geprüften Pflanzen aus verschiedenen Familien und Ordnungen der Angiospermen vollständig inaktiviert und es liegt keine Beobachtung vor, die dagegen spräche, dies auch für alle übrigen Angiospermen anzunehmen. Wahrscheinlich sind sogar alle höheren Pflanzen der E 605-Inaktivierung fähig.

Die fermentative Präparaterstörung in rohen Preßsäften ließ sich mit wiederholten Versuchen bisher nur mit *Vicia faba* eindeutig und in stark ausgeprägtem Maße nachweisen, doch es ist kaum denkbar, daß in anderen Pflanzen die Art der erwiesenen Inaktivierung eine andere sein soll. Es ist eben nicht jeder physiologische Prozeß der einzelnen Gruppen von Organismen in gleichem Maße in vitro reproduzierbar.

Die Abhängigkeit der Präparatinaktivierung von dem kleinen P_H -Bereich zwischen 7,0 und 7,5 läßt darauf schließen, daß der Ort der Inaktivierung in der lebenden Pflanze im Zytoplasma mit entsprechender Azidität liegt. Ebenfalls konnte eine von der Azidität des Mediums weitgehend unabhängige bakterielle Inaktivierung nachgewiesen werden.

Es ist zwar damit zu rechnen, daß das Molekül durch Abbau inaktiviert wird, es dürfte jedoch nicht so weit gehen, daß einfachste phosphor- und stickstoffhaltige Ionen frei werden, denn es konnte mit E 605 bei verschiedenen Versuchen keine Düngewirkung an entsprechend mangelernährten Pflanzen erzielt werden. Selbst Drosera-Arten, die als Insektivoren natürlicherweise aus hochmolekularen organischen Verbindungen Phosphor und Stickstoff zu entnehmen vermögen, können sich diese Stoffe aus dem E 605-Molekül nicht nutzbar machen. Hofferbert und Orth (L. V. 9) geben zwar an, daß in extrem verdünnten E 605-Lösungen nach längerem Stehen im Sonnenlicht Phosphorsäure nachgewiesen werden konnte und schließen daraus auf eine Düngewirkung des Präparates, doch unsere Versuche ergeben keinerlei Hinweise für das Freiwerden der ernährungsphysiologisch verwertbaren einfachen Phosphorsäure aus dem Präparat. Da ganz allgemein das Zytoplasma Reduktionen erzeugt (vergl. Kiesel, L. V. 11, S. 60), wird das

Präparat vermutlich reduziert. Die Reduktionsprodukte erwiesen sich im Fliegen-test als ungiftig.

Das Schicksal des auf das Blattwerk grüner Pflanzen gebrachten Präparates findet folgende Deutung: Es löst sich in den epidermalen Decklipoiden, die wegen ihrer geringen Dicke keine nennenswerte Präparatkapazität besitzen und dringt in das Blattgewebe ein. Ein kleiner Teil gelangt unter Umgehung des Plasmas über die Membranen direkt in den anorganischen Saftstrom und kann mit der Guttation ausgetrieben werden oder wird mit dem Transpirationsstrom wieder in das Blattgewebe zurückgeführt. Im Zytoplasma der Blätter wird die gesamte eingedrungene Menge sehr schnell inaktiviert, wodurch ein ständiges Konzentrationsgefälle von der Oberfläche zum Blattinnern aufrechterhalten wird. Dadurch kommt die Diffusion nicht eher zum Stillstand, bis praktisch die gesamte Präparatmenge von der Oberfläche verschwunden ist.

Ebenfalls wird durch die fermentative Inaktivierung von E 605 im Zytoplasma verständlich, daß das Präparat nicht in die Siebröhren gelangt, da es offenbar das Plasma der Blattzellen nicht passieren kann, ohne zerstört zu werden. Spuren des Präparates, die unter Umgehung des Zytoplasmas direkt in die Siebröhren gelangen könnten, werden wohl im lebenden plasmatischen Wandbelag dieser Leitbahnen inaktiviert, besonders dann, wenn die Vermutung von *Schumacher* (L. V. 20) zutrifft, daß in den Siebröhren die primäre Wanderbahn nicht der Zellsaft, sondern das Plasma ist. So leuchtet es ein, daß kein Präparattransport vom Sproß abwärts in die Wurzel und von den Blättern als der Bildungsstätte der Assimilate in die Früchte, Knollen und andere Sproßteile nachgewiesen werden konnte. Das Fruchtfleisch blieb stets nach mehrmaligen gründlichen Sproßspritzungen präparatfrei. Damit findet die Tatsache ihre einleuchtende Erklärung, daß Blattläuse beim Anstechen des Phloems nicht abgetötet werden, wenn entferntere Pflanzenteile das Präparat aufgenommen haben. Auch *Hofferbert* und *Orth* (L. V. 9) konnten feststellen, daß das Präparat nicht von einem Blatt zum andern wandert und unbehandelte Sproßteile insektizid unwirksam bleiben, wenn andere Teile am gleichen Sproß behandelt wurden. Doch vertreten sie die Ansicht, daß es möglich sein müsse, durch Gießen des Bodens mit E 605-Brühen alle Pflanzenteile für Insekten toxisch zu machen, wohingegen eigene Versuchsergebnisse die Präparatmengen, die tatsächlich von den Wurzeln aufgenommen werden können, als zu klein erscheinen lassen, um einen Effekt von praktischer Bedeutung zu erwarten. Erst recht verhindert die fermentative Inaktivierung des Präparats in der Pflanze eine Wirksamkeit auf längere Zeit.

Bei Früchten mit verhältnismäßig dicken Lipoidüberzügen liegen die Verhältnisse etwas anders als bei den Blättern. Die lipophilen Schichten nehmen das flüssige Präparat sehr schnell auf und haben wegen ihrer Dicke eine verhältnismäßig große Präparatkapazität und geben daher das Präparat nicht an das wässrige Fruchtfleisch ab. Auch gibt die Schale behandelter Weinbeeren beim Pressen das Präparat nicht an den wässrigen Traubensaft ab. Für das grundsätzliche Verhalten des Präparates auf und in den Fruchtschalenlipoiden scheint es ohne Bedeutung zu sein, ob diese aus echten Fetten oder Wachsen bestehen, ob sie flüssig-ölartig oder kristallinisch fest sind (vergl. *Linsbauer* L. V. 14).

Wenn Äpfel, Weinbeeren usw. mit E 605 f-Brühe gespritzt werden, so wird während des Antrocknens des Spritzbelages bereits die Hauptpräparatmenge in die Schale eindringen und in den nächsten Stunden, den Diffusionsgesetzen gehorchend, praktisch der gesamte Rest. Dadurch verlieren die gespritzten Fruchtoberflächen in den ersten 24 Stunden den Großteil ihrer Wirksamkeit. Das in den

Lipoiden gelöste Präparat wird einen herabgesetzten Dampfdruck haben, so daß ein weiterer Substanzverlust durch Verdampfen nicht ins Gewicht fallen dürfte. Eine Präparatinaktivierung scheint in der Schale nach unseren Untersuchungen zumindest nicht in starkem Maße möglich zu sein. Darin liegt der Grund dafür, daß E 605 in der Fruchtschale im Laufe von Wochen keine wesentliche Wirksamkeitsminderung erfährt. Die Residualwirkung des Präparates gegen Schädlinge, die die Fruchtschale annagen und so mit dem gespeicherten Präparat in Berührung kommen, muß daher wochenlang anhalten, wenn nicht durch Wachstum der Früchte eine unerschwellige Verdünnung erreicht wird. Insekten, die die Schale nur oberflächlich mit ihren Tarsen berühren, dürften kaum geschädigt werden, wie der Test mit Stubenfliegen zeigt.

Wenn das sonst recht stabile E 605-Molekül durch Bakterien- und Pflanzenfermente seine Giftwirkung verlieren kann, ist es nicht einzusehen, warum die Fermente der Säfte des Verdauungstrakts, der Gewebe und der Bakterienflora des Darmes von Tieren nicht dazu befähigt sein sollen. Die Tatsache, daß die Kontaktgiftwirkung des Präparates eine bessere ist als die Fraßgiftwirkung, weist ebenfalls darauf hin. Tatsächlich gibt auch unsere graphische Darstellung (Abb. 19) der Beziehungen zwischen der E 605 f-Konzentration und der Abtötungszeit einen deutlichen Hinweis für diese Hypothese. Es fällt auf, daß die Werte der Abtötungszeiten im Konzentrationsbereich von 1 bis 0,0008 % in dem Koordinatensystem mit logarithmischer Achseneinteilung alle auf einer Geraden liegen, während bei größeren Verdünnungen die Gerade in eine Kurve mit stärker wachsenden Abtötungszeiten übergeht. Demnach muß angenommen werden, daß dem Wirkungsmechanismus von E 605 im Insektenkörper nach Berührung mit dem Präparat im gesamten geprüften Konzentrationsbereich einheitliche Prozesse zugrunde liegen, wovon einer erst bei größeren Verdünnungen als 0,0008 % zum Ausdruck kommt. Wir möchten dieser Erscheinung daher folgende Deutung geben, die unseren bisherigen Untersuchungen am meisten entspricht. Das neurotrope Insektizid muß an die Nerven gelangen, um seine Wirkung entfalten zu können. Dabei kommt es mit Körpersäften in Berührung, die E 605 inaktivierende Fermente enthalten. Ein Teil wird also zerstört und unwirksam. Ist die Konzentration des gebotenen Präparates groß genug, so bleibt die Inaktivierung ohne praktische Auswirkung. Ist jedoch der Präparatnachschieb von außen, durch geringe Konzentration bedingt, langsam und klein, so wird davon ein wesentlicher Teil laufend inaktiviert und die Abtötung des Insektes daher verzögert. Bei Anwendung von Konzentrationen unterhalb 0,0001 % wird die eindringende geringe Präparatmenge laufend vollständig kompensiert und es bleibt daher jede sichtbare Schädigung des Insektes aus.

Das Präparat scheint daher nur zu Vergiftungen zu führen, wenn es in verhältnismäßig hoher Konzentration zur Anwendung kommt und die laufende Inaktivierung die große Wirkstoffmenge nicht schnell genug bewältigen kann, um eine neurotoxische Wirkung zu verhindern. Daher wird auch die Vergiftung bei oraler Einverleibung von E 605 vielmehr eine Frage der Konzentration als der tatsächlich aufgenommenen Präparatmenge sein. Bei Verdünnung des Präparates mit einer größeren Menge Nahrungsbrei könnte eine sukzessive Inaktivierung des Präparates seine Aufnahme durch die Darmwände in unverändertem und daher giftigem Zustande verhindern. Für diese Hypothese spricht auch die Tatsache, daß für E 605 bisher noch keine kumulierende Wirkung festgestellt werden konnte.

Die Ergebnisse der Untersuchungen über das Verhalten von E 605 auf und in der Pflanze lassen sich zwanglos auf Grund nur weniger, allerdings grundlegen-

der Eigenschaften des Präparates erklären. Wegen seines flüssigen Aggregatzustandes und seines lipophilen Charakters vermag es pflanzliche Lipide zu durchdringen und sich in ihnen anzureichern. Seine Molekülgröße und seine neben der Lipidlöslichkeit bestehende noch bedeutende Wasserlöslichkeit ermöglichen ihm die Ausbreitung in Zellmembranen, wässrigen Pflanzensäften und offenbar auch durch die Plasmagrenzschichten. Seine elektrische Indifferenz scheint zu verhindern, daß es in großer Menge von der Wurzel aktiv aufgenommen wird. Durch seine weitgehende Beständigkeit gegen chemische und physikalische Einflüsse sowie seine geringe Flüchtigkeit wird ein nennenswerter Substanz- oder Wirksamkeitsverlust verhindert. Lediglich seine fermentative Angreifbarkeit macht seine schnelle und restlose Beseitigung aus dem Blattgewebe möglich.

XIII.

Zusammenfassung

Mit den Untersuchungen der vorliegenden Arbeit wurde angestrebt, das Problem des Verhaltens einer pflanzenfremden organischen Verbindung auf und in der Pflanze einer Klärung näherzubringen. Das für die Pflanzenschutzpraxis bedeutsame Insektizid E 605 schien wegen seiner besonderen Eigenschaften dazu bestens geeignet zu sein.

1. Morphologisch-histologische Beeinflussung der Pflanze durch E 605 f.
 - a) Spritzungen mit den Gebrauchskonzentrationen um 0,02 % blieben ohne erkennbaren Einfluß auf den Habitus und das Gewebe der Pflanzen.
 - b) Erst Konzentrationen über 0,1 % riefen bei einigen empfindlichen Pflanzen Braunfleckigkeit der Blattspreiten hervor und verursachten gelegentlich reversible Wachstumshemmungen.
 - c) Die Vegetationspunkte blieben meist unversehrt und trieben neue völlig normale Blätter.
 - d) Wo Schäden auftraten, blieben sie auf die behandelten Pflanzenteile örtlich begrenzt, wenn nicht durch Schädigung beträchtlicher Sproßteile oder der Wurzel die Ernährung der Pflanze gestört wurde, wie es bei besonderen Versuchen mit ungewöhnlich hohen Konzentrationen vereinzelt vorkam.
 - e) Eine direkte Stimulierung des Pflanzenwachstums konnte experimentell nicht bestätigt werden.
 - f) Ein Düngeeffekt wurde nicht erzielt.
2. Die E 605-Aufnahme durch die Pflanze.
 - a) Alle untersuchten pflanzlichen Gewebe zeigten sich für das Präparat grundsätzlich durchlässig.
 - b) Der Großteil der auf Früchte aufgetragenen Präparatmengen löste sich innerhalb 24 Stunden in den Decklipiden der Früchte.
 - c) Ein Substanzverlust tritt in der Schale offenbar kaum ein.
 - d) Das Fruchtfleisch blieb stets präparatfrei, da nach normalen Spritzungen die verhältnismäßig dicken Lipidüberzüge der Früchte das Präparat an wässrige Medien nicht weitergeben.

3. Die Ausbreitung des Präparates in der Pflanze.

- a) Die Ausbreitung auf kurze Entfernungen muß als reiner Diffusionsvorgang angesehen werden.
- b) Mit dem anorganischen Saftstrom kann es auf größere Entfernungen transportiert werden.
- c) Ein Transport innerhalb der Siebröhren ist offenbar nicht möglich.
- d) Von den Blättern gelangt das Präparat in der Regel nicht in andere Pflanzenorgane.
- e) Eine Speicherung des Präparates konnte im pflanzlichen Gewebe nicht nachgewiesen werden.

4. Die Ausscheidung des Präparates aus der Pflanze.

Lediglich in der Guttationsflüssigkeit konnten geringe Präparatmengen nachgewiesen werden. Transpirationsgase und Wurzelausscheidungen waren stets ungiftig.

5. Die E 605-Inaktivierung.

- a) Nur in stark alkalischen Medien ließ sich erst nach wochenlanger Einwirkung eine Beeinträchtigung der insektiziden Wirksamkeit durch Alkaliwirkung nachweisen.
- b) Im lebenden Gewebe grüner Blätter erleidet das Präparat eine sehr schnelle und vollständige fermentative Inaktivierung, die von Licht und Chlorophyll unabhängig ist.
- c) Als Ort der Inaktivierung muß auf Grund der Aziditätsverhältnisse das Zytoplasma angesehen werden.
- d) Gewisse Bakterien vermögen offenbar ebenfalls das Präparat fermentativ zu inaktivieren.

6. Ergebnisse sonstiger Versuche.

- a) Eine gesteigerte Flüchtigkeit des Präparates mit Wasserdampf (bei Zimmertemperatur) konnte nicht festgestellt werden.
- b) Das Präparat zeigte dem elektrischen Strom gegenüber eine weitgehende Indifferenz. Mit einem spezifischen Widerstand von 200 000 Ohm in wässriger Lösung erwies es sich praktisch als Nichtleiter und ließ sich im elektrischen Feld an keiner Elektrode anreichern. Ferner erlitt es keine elektrolytische Zersetzung.

XIV.

Summary

It is the object of the research work described to throw additional light on the problem of the behaviour on and in the plant of an organic compound which is foreign to the plant. Because of its special properties the insecticide E 605, which is so important in the field of plant protection, seemed to be particularly suitable for this purpose.

1. Morphological and histological influence of E 605 f on the plant.

- a) Sprayings with the practical concentrations of around 0.02 % had no visible effect on the habit and the tissues of the plants.
- b) Only when concentrations beyond 0.1 % were applied some sensitive plants showed brown-spreckled leaf-blades and occasionally also reversible growth retardation.
- c) In most cases the vegetation points remained undamaged, and new and perfectly normal leaves were formed.
- d) Where injuries occurred they were locally limited to the treated parts of the plants unless nutrition was disturbed owing to the root or considerable parts of shoots having been damaged, such as sporadically happened in special tests with unusually high concentrations.
- e) A direct stimulation of plant growth could not be confirmed by way of experiments.
- f) A fertilizing effect was not achieved.

2. Penetration of E 605 into the plant.

- a) All vegetable tissues tested proved to be principally permeable for the preparation.
- b) The majority of the quantities of the preparation coated on fruits dissolved in the covering lipoids of the fruits within 24 hours.
- c) Obviously, there is practically no loss of substance in the peel.
- d) The fruit pulp always remained free from the preparation, because after normal sprayings the relatively thick lipid layers of the fruits do not pass the preparation on to aqueous media.

3. Distribution of the preparation inside the plant.

- a) Short-distance distribution must be considered as a mere process of diffusion.
- b) The inorganic sap flow may convey the preparation to rather distant parts of the plant.
- c) Transportation within the sieve tubes is obviously impossible.
- d) From the leaves the preparation does usually not reach other plant organs.
- e) An accumulation of the preparation in the vegetable tissue could not be proved.

4. Secretion of the preparation by the plant.

Minor quantities of the preparation could only be found in the guttation liquid. The transpiration gases and the secretions of the roots were always non-toxic.

5. The E 605 inactivation.

- a) Only in strongly alkaline media, and only after several weeks' storage therein, could it be proved that the insecticidal efficacy had been impaired by the action of alkali.

- b) In the living tissue of green leaves the preparation undergoes a very quick and complete fermentative inactivation which is independent of light and chlorophyll.
- c) In accordance with acidity conditions, the cytoplasm must be regarded as the place of inactivation.
- d) Obviously also certain bacteria are able to inactivate the preparation fermentatively.

6. Results of other tests.

- a) An increased volatility of the preparation with water vapour (at room temperature) could not be proved.
- b) The preparation showed a far reaching indifference towards the electric current. With a specific resistance of 200,000 Ohm in aqueous solution it proved to be virtually a non-conductor, and it was impossible to accumulate the preparation in the electric field at either electrode. The preparation was also not subject to electrolytic dissociation.

XV.

Résumé

Le but poursuivi par les recherches décrites dans la présente étude était d'arriver à un éclaircissement du problème de l'activité déployée sur et à l'intérieur d'une plante par un composé organique étranger à celle-ci. Il nous a semblé qu'en raison de ses caractéristiques spéciaux et de son importance dans le domaine de la défense des plantes, l'insecticide E 605 était particulièrement approprié à cet effet.

1. Influence morphologique et histologique de l'E 605 f sur la plante.

- a) Des pulvérisations avec des doses d'emploi à env. 0,02 % restaient sans effet perceptible sur l'habitus et les tissus des plantes.
- b) Ce n'étaient que les concentrations au delà de 0,1 % qui, chez quelques plantes sensibles, firent apparaître des taches brunes sur les feuilles engainantes et qui, occasionnellement, étaient la cause d'inhibitions réversibles de croissance.
- c) Le plus souvent, les points de végétations restaient intacts et formaient de nouvelles feuilles, tout à fait normales.
- d) Là, où des dommages avaient été causés, il furent limités aux parties traitées des plantes, à moins que la nutrition de la plante n'ait été dérangée par l'endommagement d'un grand nombre de bourgeons ou de racines, ce qui se produisit exceptionnellement au cours d'essais avec des pulvérisations d'une concentration extraordinaire.
- e) On n'a pas pu observer, au cours des expériences entreprises, une stimulation directe de la végétation.
- f) Un effet fertilisant ne fut pas obtenu.

2. Pénétration de l'E 605 dans la plante.

- a) En règle générale, les tissus végétaux se montraient perméables à la préparation.
- b) La majeure partie des quantités de l'E 605 appliquées aux fruits se dissolva dans les lipoides contenues dans la pelure extérieure des fruits, dans les 24 heures.
- c) Apparemment, il n'y a pas de perte de substance dans la pelure.
- d) La pulpe restait toujours libre de la préparation du fait qu'après des pulvérisations normales les revêtements lipoides relativement épais des fruits ne laissent passer la préparation vers les milieux aqueux.

3. La distribution de la préparation dans la plante.

- a) La distribution à courte distance doit être considérée comme un simple phénomène de diffusion.
- b) La préparation peut, avec la sève brute, être transportée à grande distance.
- c) Un transport à travers les tubes criblés est apparemment impossible.
- d) Ordinairement, la préparation déposée sur les feuilles n'arrive pas à atteindre les autres organes de la plante.
- e) Une accumulation de la préparation à l'intérieur des tissus végétaux n'a pu être constatée.

4. La sécrétion de la préparation par la plante.

Uniquement dans les gouttes se formant à la pointe des feuilles a-t-on pu démontrer la présence de petites quantités de la préparation. Les gaz de transpiration et les sécrétions des racines étaient toujours non-toxiques.

5. Comment l'E 605 est rendu inactif.

- a) Ce n'est que dans les milieux fortement alcalins et après avoir agi pendant plusieurs semaines, qu'une diminution de l'action insecticide a pu être constatée.
- b) Dans les tissus vivants de feuilles vertes, la préparation est rapidement et complètement rendue inactive par fermentation. Ceci se fait indépendamment de la lumière et du chlorophyll.
- c) En raison des conditions d'acidité, le zytosol doit être considéré comme étant le lieu où la préparation est rendue inactive.
- d) Il semble que certaines bactéries sont également capables d'inactiver la préparation par fermentation.

6. Résultats d'autres expériences.

- a) Une volatilité accentuée de la préparation en présence de vapeur d'eau (à la température ordinaire) n'a pu être mise en évidence.
- b) Vis à vis du courant électrique, la préparation se montra largement indifférente. Ayant une résistance spécifique de 200 000 ohm en solution aqueuse, elle se révéla comme étant pratiquement non-conductrice et ne se laissa enrichir à aucune électrode dans le champ électrique. De plus, elle ne subit aucune décomposition électrolytique.

Literaturverzeichnis

V. Die mit * bezeichneten Literaturstellen waren nur im Referat zugänglich.

1. *Arens, K.* Die kutikuläre Exkretion des Laubblattes. — Jahrb. f. wissensch. Bot. 80, 1934, S. 248—300.
- 2.* *Büsgen, M.* Der Honigtau. — Jenaish. Zeitschr. f. Nat. Wiss., Jena 1891.
- 3.* *Burgerstein* Übersicht der Untersuchungen über die Wasseraufnahme der Pflanzen durch die Oberfläche der Blätter. — 1891.
4. *Frey-Wyssling, A.* Die Stoffausscheidung höherer Pflanzen. — Springer-Verlag, Berlin 1935, S. 229, 231, 320.
5. *Frohberger, P. E.* Die Guttationstropfenmethode. — „Höfchen-Briefe“, Veröffentlichungen der „Bayer“-Pflanzenschutzabteilung, Leverkusen 3/1948, S. 23—25.
6. *Gäumann, E.* Pflanzliche Infektionslehre. — Verl. Birkhäuser, Basel, 1946, S. 111.
7. *Geßner, F.* Leistungen des pflanzlichen Organismus. — Handbuch der Biologie, Bd. IV, Heft 2/3, S. 53.
8. *Hallier, E.* Phytopathologie, Saftaufnahme der Blätter von außen. — Verl. v. Wilh. Engelmann, Leipzig 1868.
9. *Hofferbert, W. und Orth, H.* Ein Vorschlag zur inneren Therapie der Kartoffelpflanze gegen die Pfirsichblattlaus mit Hilfe von E 605 f. — „Die Kartoffelwirtschaft“, 1. Jahrg., Heft 2, Hamburg, 20. Sept. 1948.
10. *Huber, B.* Pflanzenphysiologie. — Verl. Quelle und Meier, Leipzig, 1941, S. 51.
11. *Kiesel, A.* Chemie des Protoplasmas. — Protoplasma-Monographien, IV. Band, Verl. v. Gebr. Borntraeger, Berlin-Leipzig, 1930, S. 53—61.
12. *Kolthoff, I. M.* Säuren — Basen — Indikatoren. — Springer-Verlag, Berlin, 1932, 4. Aufl., S. 183.
13. *Lepeschkin, W. W.* Zellnekrobiose und Protoplasma-Tod. — Protoplasma-Monographien, XII. Bd., Verl. v. Gebr. Borntraeger, Berlin, 1937, S. 14—16, 21, 81—83.
14. *Linsbauer, K.* Die Epidermis. — Handbuch d. Pflanzenanatomie, 1. Abt., 2. Teil, Bd. IV, Verlag. v. Gebr. Borntraeger, Berlin, 1930, S. 111, 118 und 221.
- 15.* *Mariotte, E.* Essais de physique: De la vegetation des plantes. 1676. — Oeuvres de Mariotte, Leiden, 1717.
16. *Radtke, F.* Anatomisch-physiologische Untersuchungen an Blütennektarien. — Planta 1926, Bd. 1 (S. 379—418), S. 394.
17. *Ruge, U.* Übungen zur Wachstums- und Entwicklungsphysiologie der Pflanze. — Springer-Verlag, Berlin-Göttingen, 1947, 2. Aufl., S. 136 ff.
18. *Schanderl, H.* Botanische Bakteriologie und Stickstoffhaushalt der Pflanzen auf neuer Grundlage. — Verlag Ulmer, Stuttgart, 1946.
19. *Schumacher, W.* Lehrbuch der Botanik, 2. Teil. — Verl. v. G. Fischer, Jena, 1947, S. 157 und S. 210—211.
20. *Schumacher, W.* Zur Frage nach den Stoffbewegungen im Pflanzenkörper. — Nat. Wiss. 34. Jahrg., 1947, Heft 6, S. 178 und 179.
21. *Schweizer, G.* Einführung in die Kaltsterilisationsmethode. — Verl. Fischer, Jena, 1937, S. 19 ff.
22. *Sirk, H.* Mathematik für Naturwissenschaftler und Chemiker. — Verl. v. Th. Steinkopf, Dresden-Leipzig, 1947, 5. Aufl., S. 243 und 246.
- 23.* *Stadler, S.* Beiträge zur Kenntnis der Nektarien und Biologie der Blüte. — Diss. Zürich 1886.
24. *Stellwaag, F.* Pflanzenimpfung (Innere Therapie) und Assimilation. — Anzeiger f. Schädlingskunde, Heft 7/9, 1943, S. 59/60.
25. *Strugger, S.* Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze. — Verl. v. Gebr. Borntraeger, Berlin, 1935, S. 7 f.
26. *Sy, M.* Über die Bedeutung der zweiten Generation des Apfelwicklers (*Cydia pomonella* L.) und deren Bekämpfung. — Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, Heft 1/2, 1948, S. 29 ff.
27. *Unterstenhöfer, G.* Neue Möglichkeiten der Schädlingsbekämpfung im Kartoffelbau. — „Höfchen-Briefe“, Veröffentlichungen der „Bayer“-Pflanzenschutzabteilung, Leverkusen, Heft 2/1948, S. 20 ff.
28. *Wellenstein, G.* Zur chemischen Bekämpfung der Fichtenborkenkäfer. — Forst und Holz, Jan. 1948, S. 6.
29. *Wetzel, K.* Die Wasseraufnahme der höheren Pflanzen gemäßigter Klimate durch oberirdische Organe. — Flora, Bd. 17, 1924 (S. 221—269), S. 261.

Veröffentlichungen über E 605

41. *Bercks, R.* Bericht über die Pflanzenschutztagung in Rothenburg. — Nachr. d. BZA Braunschweig, Febr. 1949.
42. *Brandt, H.* Versuche über die Bekämpfung von Blattläusen an Kartoffeln zur Verminderung der Viruskrankheiten. — Pflanzenschutz, April 1949.
43. *Engel, H.* Borkenkäfer auch im Obstbau. — Gesunde Pflanzen, März 1949.
44. *Fjeldalen, J. und Ramsfjell, T.* Sproyting av Frukttre og Baervekster. — Minneliste for Hagedyrkere 1949.
45. *Gersdorf, E.* Phasiane clathrata L. als Luzerneschädling. — Nachr. d. BZA Braunschweig, Februar 1949.
46. *Götz, B.* Neue Möglichkeiten der Schädlingsbekämpfung im Weinbau. — Desinfektion und Schädlingsbekämpfung, 1/1949.
47. *Green, S.* E 605 ett universalmedel mot skadedjur. — Viola, April 1949.
48. *Hahmann, K. und Müller, H.* Die Chrysanthemen-Gallmücke, ein neuer Feind unserer Chrysanthemen-Kulturen. — Gesunde Pflanzen, März 1949.
49. *Holz, W.* Versuche zur Wanzenbekämpfung mit dem „Bayer“-Präparat E 605. — Anz. f. Schädlingskunde, Dez. 1948.
50. *Liebster, G.* Neue Ergebnisse in der Bekämpfung der Apfelsägewespe (*Hopocampa testudinea* Klg.). — Anz. f. Schädlingskunde, 3, 1949.
51. *Lüdicke, M.* Über das Eindringungsvermögen von E 605 f in lebende pflanzliche Gewebe. — Nachr. d. BZA Braunschweig, 2, 1949.
52. »Nature« Insecticidal properties of certain organo-phosphorus compounds. — Nature, März 1949.
53. *Nielsen, O.* Virkningerne af Bladan E 605 f på skadedyr og planter. — Gartner-Tidende 47/1948.
54. *Rodrian* Praktische Erfahrungen mit den neuesten Insektiziden bei der Bekämpfung des Heu- und Sauerwurms im Jahre 1948. — Der Weinbau 6/1949.
55. *Rosener, H.* Kleine Obstbaukunde. — Franckh'sche Verlagsbuchhandlung Stuttgart 1949.
56. *Schoel, W.* 2. Tagung des „Ausschuß Pflanzenschutz“ im Kuratorium Technik in der Landwirtschaft (KTL) in Garmisch-Partenkirchen. — Nachr. d. BZA Braunschweig, Febr. 1949.
57. *Soergel, P.* Bericht über Vergleichsprüfungen mit einem Hexa-Präparat und E 605 bei Italienerzwetsche. — Sonderdruck des Bayr. Gärtn. Verb., Mai 1949.
58. *Stellwaag, F.* Die gegenwärtige Lage in der Schädlingsbekämpfung im Weinbau. — Gesunde Pflanzen, März 1949.
59. *Stolze, K. V.* Rechtzeitige Kohlfliegenbekämpfung. — Gesunde Pflanzen, März 1949.
60. *Thiem, H.* Zur Weiterentwicklung der praktischen Maikäfer- und Engerlingsbekämpfung. — Nachr. d. BZA Braunschweig, Febr. 1949.
61. *Tunblad, Bror* Lakttagelser och rön från årets Bekämpningsmedelsprövningar. — Växtskyddsnotiser, Okt. 1948.
62. »Viola« E 605 finns nu i handeln. — Viola, Apr. 1949.
63. *Wahlén, B.* E 605 — ett nytt bekämpningsmedel. — Jordbrukaren, Jan. 1949.